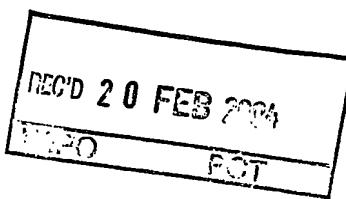


**BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND**

#2

**PRIORITY  
DOCUMENT**  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.I(a) OR (b)



**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung  
einer Patentanmeldung**

BEST AVAILABLE COPY

**Aktenzeichen:** 103 00 109.3  
**Anmeldetag:** 07. Januar 2003  
**Anmelder/Inhaber:** BAYER AKTIENGESELLSCHAFT,  
Leverkusen/DE  
**Bezeichnung:** Methode zur Inhibition der Replikation von  
Herpesviren  
**IPC:** C 07 D, C 12 Q, C 07 C

**Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.**

München, den 23. Oktober 2003  
**Deutsches Patent- und Markenamt**  
**Der Präsident**  
 Im Auftrag

Weine  
Wehner

**Methode zur Inhibition der Replikation von Herpesviren**

5 Die Erfindung betrifft eine Methode zur Inhibition der Replikation von Herpesviren, Verfahren zum Identifizieren von Verbindungen welche die Replikation von Herpesviren mit dieser Methode inhibieren, Verbindungen mit Aktivität gegen Herpesviren, Verfahren zu ihrer Herstellung sowie ihre Verwendung zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Herpes-Infektionen.

10 Die Familie der Herpesviren gliedert sich in die drei Sub-Familien Alpha-Herpesviren (z.B. Herpes simplex Virus Typ 1 und 2; HSV1 und HSV2), Beta-Herpesviren (z.B. Cytomegalievirus; HCMV) und Gamma-Herpesviren (z.B. Epstein-Barr Virus; EBV).

15 Infektionen mit Herpes-Viren manifestieren sich je nach Virustyp in Erkrankungen unterschiedlicher Organe wie der Haut, des lymphatischen Systems oder des zentralen Nervensystems.

20 Infektionen mit dem Beta-Herpesvirus HCMV erfolgen meist während der Kindheit und verlaufen in der Regel sub-klinisch. Die Durchseuchungsrate bei Erwachsenen ist daher weltweit sehr hoch (je nach untersuchter Population bis zu 90%).

25 Innerhalb der Familie der Herpesviren führt das Cytomegalievirus zur höchsten Sterblichkeitsrate unter immungeschwächten Patienten. Dies ist darauf zurückzuführen, dass Cytomegalieviren bei diesen Personen lebensbedrohende, generalisierte Erkrankungen, besonders Pneumonien verursachen.

Bei schwangeren Frauen können Infektionen mit HCMV schwere Schädigungen des Kindes zur Folge haben.

Die Viruspartikel der Herpesviren haben Durchmesser von ca. 150 bis 200 nm und setzen sich aus verschiedenen für das Virus essentiellen Strukturproteinen zusammen. Im Inneren der Partikel findet man das Virus-Core – eine fibrilläre Proteinmatrix, mit der das doppelsträngige, lineare DNA-Genom assoziiert ist. Das Core ist von einem ikosaedrischen Capsid umgeben, das aus 162 Capsomeren besteht. Das Hauptcapsidprotein (Major-Capsid-Protein, MCP) des humanen Cytomegalievirus wird als UL86 bezeichnet.

Das virale Protein UL80 wird zu mindestens drei verschiedenen Proteinen prozessiert, die bei der Kapsidreifung eine Rolle spielen. Die häufigste Form ist dabei das Assembly-Protein AP.

Die Bildung von Viruspartikeln - zunächst werden B-Kapside gebildet - wird kontrolliert von einem Vorläufer-Komplex aus UL86 und AP, der für die Translokation des MCP (UL86) in den Zellkern verantwortlich ist. Im Zellkern unterstützt AP die Bildung von Strukturen, die ein internes Gerüst innerhalb der B-Capside bilden. In die fertigen B-Kapside wird die virale DNA verpackt, wobei AP aus den Viruspartikeln ausgeschleust wird. Die DNA-haltigen infektiösen Viruspartikel werden auch als C-Kapside bezeichnet.

Zur Prophylaxe einer HCMV-Infektion steht zur Zeit kein Impfstoff zur Verfügung. Für die Therapie der HCMV-Infektion wird hauptsächlich Ganciclovir eingesetzt, welches jedoch starke Nebenwirkungen verursacht.

Daraus ergibt sich ein lange bestehendes Bedürfnis nach einer verbesserten und vor allem verträglicheren HCMV-Therapie. Die Nachfrage nach einer verbesserten HCMV-Therapie wird zudem dadurch verstärkt, dass zum einen in zunehmendem Maße Organtransplantationen durchgeführt werden und außerdem die Zahl der HIV-Infizierten stetig steigt. Bei beiden Patientengruppen kann es aufgrund der Immunsuppression zu Komplikationen aufgrund einer HCMV-Reaktivierung oder

HCMV-Infektion kommen. Daher ist hier eine verbesserte HCMV-Therapie dringend notwendig.

5 Eine bevorzugte Aufgabe der vorliegenden Anmeldung ist es, eine Methode aufzuzeigen, mit der die Replikation von Herpesviren inhibiert werden kann. Dies ist möglich durch Verbindungen, welche auf das Major Capsid Protein zielen und dabei die Bildung von C-Kapsiden, nicht aber von B-Kapsiden inhibieren. Viren, selektiert auf Resistenz gegen diese Verbindung zeigen eine oder mehrere Mutationen im für das Major Capsid Protein kodierenden Gen.

10

Eine weitere Aufgabe der vorliegenden Anmeldung ist es, ein Verfahren zur Identifizierung von Verbindungen mit diesem neuen Wirkmechanismus mit Aktivität gegen Herpesviren bereitzustellen

15 Diese Aufgabe wird gelöst durch ein Verfahren, gekennzeichnet dadurch, dass

- a) das Major Capsid Protein oder ein oder mehrere Fragmente des Major Capsid Proteins mit Testverbindungen in Kontakt gebracht wird/werden und
- b) die Bindung der Testsubstanzen an das Major Capsid Protein bzw. Fragmente gemessen wird und
- c) solche Verbindungen ausgewählt werden, welche Bindung an das Major Capsid Protein bzw. Fragmente aufweisen.

20

Weiterhin kann diese Aufgabe auch gelöst werden durch ein Verfahren, gekennzeichnet dadurch, dass

- a) Herpesviren mit Testverbindungen in Kontakt gebracht werden,
- b) resistente Herpesviren ausgelesen werden,
- c) das für das Major Capsid Protein kodierende Gen dieser resistenten Herpesviren sequenziert und die resultierende Proteinsequenz des Major Capsid Proteins abgeleitet wird

30

d) solche Verbindungen ausgewählt werden, bei denen resistente Herpesviren mit einer oder mehreren Aminosäuresubstitutionen im Major Capsid Protein auftreten.

5 Unter einem Verfahren zum Auswählen von Verbindungen mit Aktivität gegen Herpesviren wird im Rahmen der vorliegenden Erfindung ein Verfahren verstanden, bei dem neue oder an sich bekannte Verbindungen auf ihre Aktivität gegen Herpesviren untersucht werden.

10 Herpesviren sind hierbei beispielsweise Beta-Herpesviren, insbesondere das humane Cytomegalievirus, insbesondere die HCMV-Stämme Ad169 (ATCC VR-538) oder Davis (ATCC VR-807). Nicht bevorzugt ist die Verwendung des Stamms HCMV-Towne (ATCC VR-977), da dieser bereits eine Mutation im UL86 Gen trägt (P1189T), welche zu einer entsprechenden Resistenz gegen die nach dem hier beschriebenen Wirkmechanismus wirkenden Substanzen führt.

15

Überraschenderweise wurden Testverbindungen gefunden, welche sich durch einen einzigartigen Wirkmechanismus auszeichnen. Bei Kultivierung von HCMV unter Substanzdruck wird die Bildung von B-Capsiden zugelassen, wohingegen die Formierung von infektiösen C-Capsiden verhindert wird. Die Aufrechterhaltung der Bildung von B-Kapsiden unter der antiviralen Behandlung könnte insofern einen Vorteil darstellen, als dass B-Capside als Immunogen im Verlauf des viralen Replikationszyklus zunächst präsent bleiben, was sich zum Beispiel im Falle eines wiedererstarkten Immunsystems vorteilhaft für eine daraus resultierende spezifische Immunabwehrreaktion auswirken könnte.

20

Bei der Sequenzanalyse von Cytomegalieviren, die resistent gegenüber den Testverbindungen sind, wurden überraschenderweise nur Mutationen im Capsidprotein UL86 gefunden.

25

30

Da diese mutierten Viren unter Substanzdruck wachsen können, lässt sich daraus schließen, dass die Testsubstanz bei den sensitiven Wildtyp-Viren gerade an diesem Protein angreift. Elektronenmikroskopische und molekularbiologische Untersuchungen zeigen, dass durch die Substanzen die Encapsidierung viraler DNA und damit die Bildung von C-Capsiden inhibiert wird. Nicht beeinträchtigt ist die Replikation der viralen DNA und die Bildung von DNA-freien unreifen Capsiden (B-Capsiden). Im Vergleich zu dem als HCMV-Medikament in der Klinik eingesetzten DNA-Replikationsinhibitor Ganciclovir, erfolgt unter Einfluss der erfundungsge-mäßen Substanzen keine Inhibition der DNA Synthese und Expression der späten HCMV Gene. Die in UL86 gefundenen Mutationen treten bevorzugt in zwei Bereichen auf. Der erste Bereich erstreckt sich von der Aminosäureposition 435 bis 689 und der zweite Bereich von Aminosäureposition 1189 bis 1338 (siehe Tabelle 2).

10

15

20

25

30

Die antivirale Wirkung kann zum einen durch direkte Interaktion der Substanz mit UL86 zustande kommen oder aber auch über einen indirekten Effekt auf UL86 wirken.

Nach diesem neuen und überraschenden Wirkmechanismus wirkende antivirale Substanzen können noch durch weitere Methoden erhalten werden, wie z.B. Molecular Modelling mit Hilfe der dreidimensionalen Struktur eines Major Capsid Proteins, Molecular Modelling ausgehend von bekannten UL86-Inhibitoren usw. Dabei handelt es sich um dem Fachmann wohlbekannte Methoden.

Über die Funktionen und Interaktionen von UL86 während der Kapsidreifung und DNA Verpackung ist wenig bekannt. (Wood et al., J.Viro, 1997, 71, 179-190).

Die zur Zeit erhältlichen Medikamente gegen HCMV sind aufgrund starker Neben-wirkungen nicht ideal. Hochdurchsatztestungen von großen Substanzbanken haben in der letzten Zeit zu Inhibitoren geführt, die an weiteren viralen Targets angreifen (Wathen, Rev Med Virol, 2002, 12, 167-178). Der hier beschriebene Wirkmecha-

nismus zeigt eine überraschende neue Option auf, wie die Replikation von Herpesviren mit Hilfe von Verbindungen inhibiert werden kann.

Die Identifizierung von Major Capsid Protein bindenden Verbindungen kann geschehen durch Aufreinigung von Capsiden, rekombinante Expression von Major Capsid Protein oder Teilfragmenten des Major Capsid Proteins und Messung von an das Protein bzw. Proteinfragment bindenden Substanzen (z.B. HPLC, Verdrängung fluoreszierender Peptide, Verdrängung von Aptameren, diverse spektroskopische Methoden etc.), welche dem Fachmann wohlbekannt sind.

10

Weiterhin ist die Identifizierung möglich durch folgendes Verfahren mit Testsubstanzen: Unter Testverbindingen werden solche Verbindungen verstanden, die auf ihre Aktivität gegen Herpesviren untersucht werden sollen. Dies können neue oder an sich bekannte Verbindungen sein. Diese werden mit den Herpesviren in Kontakt gebracht. Dies geschieht bevorzugterweise durch Kultivierung von HCMV in 384-well Gewebekulturplatten. Dazu werden suszeptible Zellen, bevorzugterweise humane Fibroblasten, in Gewebekulturgefäßen ausgesät. Bevorzugterweise werden  $5 \times 10^3$  Zellen pro well auf einer 96-well-Platte eingesetzt und mit HCMV infiziert (bevorzugterweise mit einer moi von 0,03 ).

15

20

Die Infektionen werden unter verschiedenen Substanzkonzentrationen (bevorzugterweise bei Konzentrationen von 0,005 bis 250  $\mu\text{M}$ ) kultiviert, bis in der Viruskontrolle ein deutlicher CPE zu erkennen ist (in der Regel nach 6 Tagen). Dann kann aus den anderen Substanzkonzentrationen der  $\text{IC}_{50}$  bestimmt werden. Wirksame Substanzen zeichnen sich durch einen  $\text{IC}_{50}$ -Wert aus, der bevorzugterweise  $< 1 \mu\text{M}$  ist und zudem einen  $\text{SI} > 10$  aufweist.

25

Viren, die gegen wirksame Substanzen resistent sind, können wie folgt angezüchtet werden:

30

Bevorzugterweise erfolgt die Kultivierung von HCMV wiederum in 96-well Gewebekulturplatten. Dazu werden suszeptible Zellen, bevorzugterweise humane Fibroblasten, in Gewebekulturgefäßen ausgesät. Bevorzugterweise werden  $5 \times 10^3$  Zellen pro well auf einer 96-well-Platte eingesetzt und mit HCMV infiziert (bevorzugterweise mit einer moi von 0,03 ). Die Infektionen werden jetzt unter Substanzdruck kultiviert, der dem 10-fachen IC<sub>50</sub> Wert der Substanz entspricht.

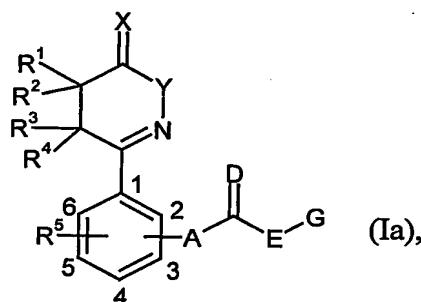
10 Zellkulturen, die einen cytopathischen Effekt (CPE) vergleichbar einer Virusinfektion ohne Substanzdruck aufweisen, werden weiter analysiert, d.h. die Viren werden auf frischen Zellkulturen passagiert und weiter unter Substanzdruck kultiviert. Viren, die unter Substanzdruck weiter wachsen und einen RI (Resistenzindex) > 5 aufweisen, werden als resistente Viren bezeichnet.

15 Die DNA der resistenten Viren wird isoliert und anschließend wird die Nukleotidsequenz des für das MCP kodierenden Gens (UL86) bestimmt und mit der Sequenz des Ausgangsvirus (Wildtyp-Virus der gegenüber der Substanz sensitiv ist) verglichen. Resistente Viren, die Mutationen in der für das Major Capsid Protein (UL86) resultierenden Aminosäuresequenz aufweisen, identifizieren eine Substanz, die als UL86-Inhibitor eingesetzt werden kann.

20 In den meisten Screens zur Identifizierung von anti-HCMV Wirkstoffen wird der seit langem bekannte und sehr etablierte Laborstamm HCMV Towne verwendet. Nach dem erfindungsgemäßen Wirkmechanismus wirkende Substanzen sind hiermit nicht oder nur sehr schwer aufzufinden. Daher ist eine wichtige Methode zur Therapie und Prophylaxe von HCMV-Infektionen bisher völlig unberücksichtigt geblieben, welche in diesem Patent beschrieben wird. In Screens zur Identifizierung von anti-HCMV Wirkstoffen können Substanzen ausgewählt werden, welche die Replikation von HCMVTowne nicht oder nur unzureichen hemmen, aber die Replikation von HCMV Wildtyp Stämmen unterdrücken. Diese Wirkstoffe können dann zur Therapie und Prophylaxe von HCMV-Infektionen eingesetzt werden.

Bevorzugt sind

[A] Verbindungen der allgemeinen Formel (Ia),



in welcher

A über die Positionen 2, 3, 5 oder 6 an den Aromaten gebunden ist und

10      A      für Sauerstoff oder NR<sup>6</sup> steht,

E      für Sauerstoff, CR<sup>9</sup>R<sup>10</sup> oder NR<sup>7</sup> steht,

15      Y      für Sauerstoff oder NR<sup>8</sup> steht,

D und X gleich oder verschieden sind und jeweils für Sauerstoff oder Schwefel stehen,

20      G      für Wasserstoff steht,

oder

25      G      für C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Aryl steht, wobei C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Aryl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Halogen, Hydroxy, Nitro, Cyano, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Hydroxycarbonyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-

Alkoxycarbonyl, Amino, mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylaminocarbonyl und C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl,

worin

5

C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxycarbonyl, mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylaminocarbonyl oder C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl gegebenenfalls substituiert sein können mit bis zu drei Substituenten ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Halogen, Hydroxy, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, Hydroxycarbonyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxycarbonyl, mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylaminocarbonyl und C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Aryl,

10

oder

15

G für C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Aryl steht, wobei C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Aryl gegebenenfalls substituiert sein kann mit Phenyl,

worin

20

Phenyl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Halogen, Hydroxy, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, Hydroxycarbonyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxycarbonyl, mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylaminocarbonyl und C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl,

25

worin

C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl seinerseits gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Hydroxy, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, Hydroxycarbonyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxycarbonyl und mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylaminocarbonyl,

30

oder

G für C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Aryl steht, wobei C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Aryl gegebenenfalls substituiert sein kann mit Phenyl,

5

worin

Phenyl gegebenenfalls substituiert sein kann mit C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub>-Heteroaryl oder C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub>-Heterocyclyl,

10

worin

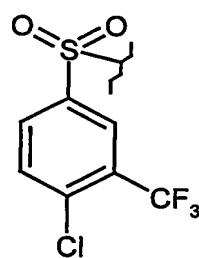
C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub>-Heteroaryl oder C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub>-Heterocyclyl ihrerseits gegebenenfalls substituiert sein können mit bis zu drei Substituenten ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Halogen, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, Hydroxycarbonyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxycarbonyl und mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylaminocarbonyl,

15

oder

20

G für C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Aryl steht, wobei C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Aryl gegebenenfalls substituiert sein kann mit einer Gruppe der folgenden Formel



25

oder

G für C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>-Heteroaryl oder C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub>-Heterocyclyl steht, wobei C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>-Heteroaryl oder C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub>-Heterocyclyl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Halogen, Nitro, Cyano, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, Hydroxycarbonyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy carbonyl und mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylaminocarbonyl,

5

oder

10

G für C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>-Cycloalkyl steht, wobei C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>-Cycloalkyl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Halogen, Nitro, Cyano, Hydroxy, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylcarbonylamino, Hydroxycarbonyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy carbonyl und mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylaminocarbonyl,

15

R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> und R<sup>4</sup> gleich oder verschieden sind und jeweils für Wasserstoff, Amino, mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylcarbonylamino, C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Aryl oder C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, wobei C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Hydroxy, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylcarbonylamino, Hydroxycarbonyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy carbonyl und mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylaminocarbonyl, stehen,

20

25

und

30

wobei C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Aryl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Halogen, Hydroxy, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylcarbonylamino, Hydroxycarbonyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy carbonyl, mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylaminocarbonyl und C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl,

worin

5      C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Hydroxy, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylcarbonylamino, Hydroxycarbonyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxycarbonyl und mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylaminocarbonyl,

10     oder

15     R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> oder R<sup>3</sup> und R<sup>4</sup> bilden zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, einen C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>-Cycloalkyl-Ring, wobei der C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>-Cycloalkyl-Ring gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Halogen, Hydroxy, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylcarbonylamino, Hydroxycarbonyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxycarbonyl und mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylaminocarbonyl,

20     oder

25     R<sup>1</sup> und R<sup>3</sup> bilden zusammen mit den Kohlenstoffatomen, an die sie gebunden sind, einen C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>-Cycloalkyl-Ring, wobei der C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>-Cycloalkyl-Ring gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Halogen, Hydroxy, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylcarbonylamino, Hydroxycarbonyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxycarbonyl und mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylaminocarbonyl,

30     R<sup>5</sup> für Wasserstoff, Halogen, Hydroxy, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino oder C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl steht, wobei C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, mono- oder

5

di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino oder C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl gegebenenfalls substituiert sein können mit bis zu drei Substituenten ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Hydroxy, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, Hydroxycarbonyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxycarbonyl und mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylaminocarbonyl,

10

R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> und R<sup>8</sup> gleich oder verschieden sind und jeweils für Wasserstoff oder C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl stehen, wobei C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Hydroxy, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylcarbonylamino, Hydroxycarbonyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxycarbonyl und mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylaminocarbonyl,

15

R<sup>9</sup> und R<sup>10</sup> gleich oder verschieden sind und jeweils für Wasserstoff, NR<sup>11</sup>R<sup>12</sup>, OR<sup>13</sup> oder C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl stehen, wobei C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Hydroxy, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylcarbonylamino, Hydroxycarbonyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxycarbonyl und mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylaminocarbonyl,

20

25

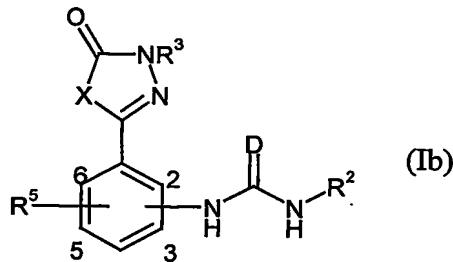
R<sup>11</sup>, R<sup>12</sup> und R<sup>13</sup> gleich oder verschieden sind und jeweils für Wasserstoff oder C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl stehen, wobei C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Hydroxy, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylcarbonylamino, Hydroxycarbonyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxycarbonyl und mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylaminocarbonyl,

30

sowie deren Tautomere, Stereoisomere, stereoisomere Gemische und deren pharmakologisch verträglichen Salze,

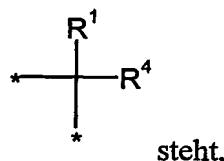
oder

## [B] Verbindungen der Formel (Ib)



5 in welcher

der Rest  $-\text{NHC}(\text{D})\text{NHR}^2$  über eine der Positionen 2, 3, 5 oder 6 an den Aromaten gebunden ist,

10 X für  $-\text{N}(\text{R}^6)$ - oder eine Gruppe

D für Sauerstoff oder Schwefel steht,

15 R¹ für C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Aryl oder C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl steht, wobei Alkyl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Hydroxy, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylcarbonylamino, Hydroxycarbonyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy-carbonyl und C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylaminocarbonyl,

20 und

wobei Aryl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Halogen,

Hydroxy, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylcarbonyl-amino, Hydroxycarbonyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxycarbonyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylaminocarbonyl und C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl,

5

oder

R<sup>1</sup> und R<sup>4</sup> bilden zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, einen C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>-Cycloalkyl-Ring, wobei der Cycloalkyl-Ring gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Halogen, Hydroxy, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylcarbonylamino, Hydroxycarbonyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxycarbonyl und C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylaminocarbonyl,

10

15

R<sup>2</sup> für C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-Cycloalkyl oder C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Aryl steht, wobei Aryl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Halogen, Hydroxy, Nitro, Cyano, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Hydroxycarbonyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxycarbonyl, Amino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylaminocarbonyl und C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl,

20

R<sup>3</sup> für Wasserstoff oder C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl steht, wobei Alkyl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu zwei Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Hydroxycarbonyl und C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxycarbonyl,

25

R<sup>4</sup> für C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl steht, wobei Alkyl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Hydroxy, C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Aryl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylcarbonylamino, Hydroxy-carbonyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxycarbonyl und C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylaminocarbonyl,

30

oder

R<sup>4</sup> für C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Aryl steht, wobei Aryl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Halogen, Hydroxy, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylcarbonylamino, Hydroxycarbonyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxycarbonyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylaminocarbonyl und C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl,

5

R<sup>5</sup> für Wasserstoff, Halogen, Hydroxy, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino oder C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl steht,

10

R<sup>6</sup> für C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Aryl, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-Cycloalkyl oder C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl steht, wobei Alkyl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu zwei Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Hydroxy, C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Aryl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, Hydroxycarbonyl und C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxycarbonyl,

15

und

20

wobei Cycloalkyl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Hydroxy, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Aryl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, Hydroxycarbonyl und C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxycarbonyl,

25

sowie deren Tautomere, Stereoisomere, stereoisomere Gemische und deren pharmakologisch verträglichen Salze.

30

Bevorzugt sind Verbindungen der allgemeinen Formel (Ia) worin

A über die Positionen 2, 3, 5 oder 6 an den Aromaten gebunden ist und

A für NR<sup>6</sup> steht,

E für NR<sup>7</sup> steht,

Y für NR<sup>8</sup> steht,

5

D und X für Sauerstoff stehen,

G für C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Aryl steht, wobei C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Aryl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten, die unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus Halogen, Hydroxy, Cyano und C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl,

10

worin

15

C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten von Halogen,

oder

20

G für C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub>-Heteroaryl steht, wobei C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub>-Heteroaryl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten, die unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus Halogen und C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-Alkyl,

oder

25

G für C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>-Cycloalkyl steht, wobei C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>-Cycloalkyl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl,

30

R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> und R<sup>3</sup> gleich oder verschieden sind und jeweils für Wasserstoff oder für C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-Alkyl stehen,

R<sup>4</sup> für Wasserstoff, C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Aryl oder C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl steht, wobei C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten, die unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus Hydroxy, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, mono-oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylcarbonylamino, Hydroxycarbonyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxycarbonyl und mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylaminocarbonyl,

5

und

10

wobei C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Aryl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten, die unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus Halogen, Hydroxy, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy und C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl,

15

wobei R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> und R<sup>4</sup> nicht gleichzeitig Wasserstoff sind,

R<sup>5</sup>

für Wasserstoff, Halogen, Hydroxy, Amino, mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino oder C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl steht, wobei C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten, die unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus Hydroxy, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, Hydroxycarbonyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxycarbonyl und mono- oder di-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylaminocarbonyl,

20

R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> und R<sup>8</sup> für Wasserstoff stehen,

25

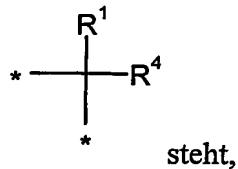
oder

Verbindungen der allgemeinen Formel (Ib) worin

der Rest -NHC(D)NHR<sup>2</sup> über eine der Positionen 2, 3, 5 oder 6 an den Aromaten gebunden ist,

30

X für  $-N(R^6)$ - oder eine Gruppe



D für Sauerstoff steht,

5

R¹ für C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl steht, wobei Alkyl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Hydroxy, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylcarbonylamino, Hydroxycarbonyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxycarbonyl und C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylaminocarbonyl,

10

oder

R¹ und R⁴ bilden zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, einen C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub>-Cycloalkyl-Ring, wobei der Cycloalkyl-Ring gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Halogen, Hydroxy, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylcarbonylamino, Hydroxycarbonyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxycarbonyl und C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylaminocarbonyl,

20

R² für C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Aryl steht, wobei Aryl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Halogen oder C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl,

25

R³ für Wasserstoff oder C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl steht, wobei Alkyl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu zwei Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Hydroxycarbonyl und C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxycarbonyl,

R<sup>4</sup> für C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl steht, wobei Alkyl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Hydroxy, Phenyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylcarbonylamino, Hydroxycarbonyl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxycarbonyl und C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylaminocarbonyl,

R<sup>5</sup> für Wasserstoff, Halogen, Hydroxy, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino oder C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl steht,

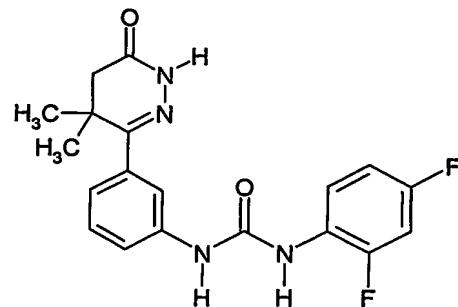
R<sup>6</sup> für C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-Cycloalkyl oder C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl steht, wobei Alkyl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu zwei Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Hydroxy, C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Aryl, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy, Amino, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylamino, Hydroxycarbonyl und C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy-carbonyl,

und

wobei Cycloalkyl gegebenenfalls substituiert sein kann mit bis zu drei Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl und C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy.

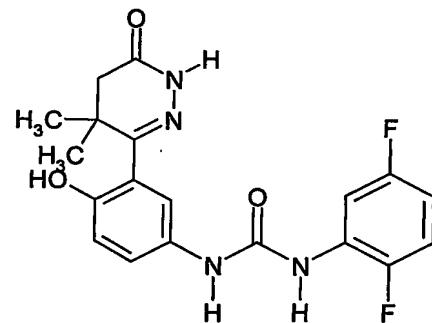
Besonders bevorzugt sind

N-(2,4-Difluorphenyl)-N'-[3-(4,4-dimethyl-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydro-3-pyridazinyl)-phenyl]harnstoff

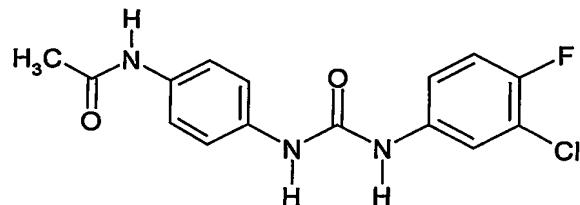


N-(2,5-Difluorophenyl)-N'-[3-(4,4-dimethyl-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydro-3-pyridazinyl)-4-hydroxyphenyl]harnstoff

5

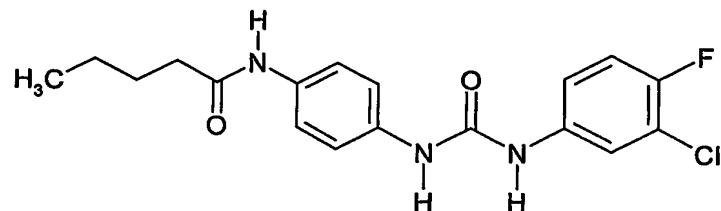


N-[4-({[(3-Chlor-4-fluorophenyl)amino]carbonyl}amino)phenyl]acetamid

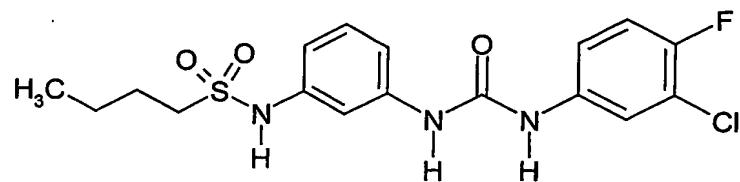


10

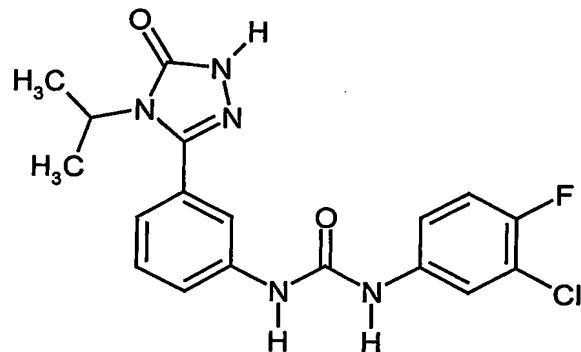
N-[4-({[(3-Chlor-4-fluorophenyl)amino]carbonyl}amino)phenyl]pentanamid



N-[3-({[(3-Chlor-4-fluorophenyl)amino]carbonyl}amino)phenyl]-1-butansulfonamid

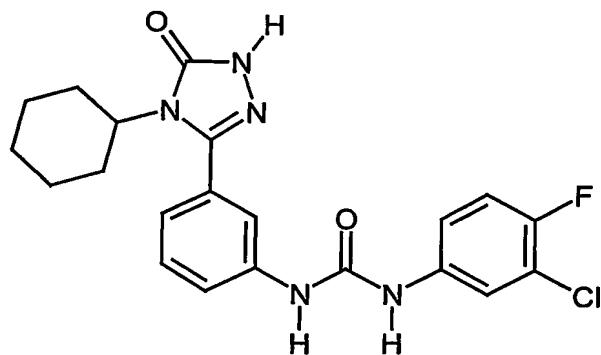


1-(3-Chlor-4-fluor-phenyl)-3-[3-(4-isopropyl-5-oxo-4,5-dihydro-1H-[1,2,4]triazol-3-yl)-phenyl]harnstoff



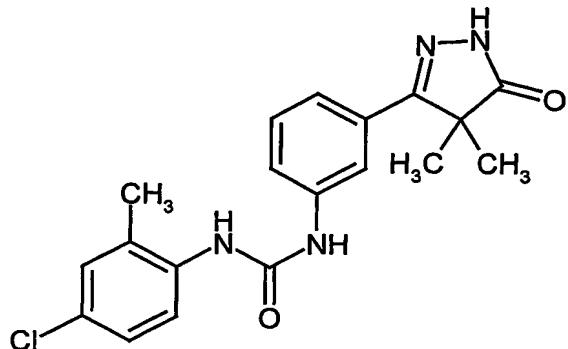
5

1-(3-Chlor-4-fluor-phenyl)-3-[3-(4-cyclohexyl-5-oxo-4,5-dihydro-1H-[1,2,4]triazol-3-yl)-phenyl]harnstoff



10

N-(4-Chlor-2-methylphenyl)-N'-[3-(4,4-dimethyl-5-oxo-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-yl)phenyl]harnstoff



5 Die erfindungsgemäßen Verbindungen können in Abhängigkeit von ihrer Struktur in stereoisomeren Formen (Enantiomere, Diastereomere) existieren. Die Erfindung betrifft deshalb die Enantiomeren oder Diastereomeren und ihre jeweiligen Mischungen. Aus solchen Mischungen von Enantiomeren und/oder Diastereomeren lassen sich die stereoisomer einheitlichen Bestandteile in bekannter Weise isolieren.

10

Die Erfindung betrifft in Abhängigkeit von der Struktur der Verbindungen auch Tautomere der Verbindungen.

15

Als Salze sind im Rahmen der Erfindung physiologisch unbedenkliche Salze der erfindungsgemäßen Verbindungen bevorzugt.

20

Physiologisch unbedenkliche Salze der Verbindungen (I) umfassen Säureadditionssalze von Mineralsäuren, Carbonsäuren und Sulfonsäuren, z.B. Salze der Chlorwasserstoffsäure, Bromwasserstoffsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Methansulfonsäure, Ethansulfonsäure, Toluolsulfonsäure, Benzolsulfonsäure, Naphthalindisulfonsäure, Essigsäure, Propionsäure, Milchsäure, Weinsäure, Äpfelsäure, Zitronensäure, Fumarsäure, Maleinsäure und Benzoesäure.

25

Physiologisch unbedenkliche Salze der Verbindungen (I) umfassen auch Salze üblicher Basen, wie beispielhaft und vorzugsweise Alkalimetallsalze (z.B. Natrium- und

Kaliumsalze), Erdalkalisalze (z.B. Calcium- und Magnesiumsalze) und Ammoniumsalze, abgeleitet von Ammoniak oder organischen Aminen mit 1 bis 16 C-Atomen, wie beispielhaft und vorzugsweise Ethylamin, Diethylamin, Triethylamin, Ethyldiisopropylamin, Monoethanolamin, Diethanolamin, Triethanolamin, Dicyclohexylamin, Dimethylaminoethanol, Prokain, Dibenzylamin, N-Methylmorpholin, Dihydroabietylamin, Arginin, Lysin, Ethylendiamin und Methylpiperidin.

5

Als Solvate werden im Rahmen der Erfindung solche Formen der Verbindungen bezeichnet, welche in festem oder flüssigem Zustand durch Koordination mit Lösungsmittelmolekülen einen Komplex bilden. Hydrate sind eine spezielle Form der Solvate, bei denen die Koordination mit Wasser erfolgt.

10

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung haben die Substituenten, soweit nicht anders spezifiziert, die folgende Bedeutung:

15

Alkyl per se und "Alk" und "Alkyl" in Alkoxy, Alkylamino, Alkylaminocarbonyl und Alkoxycarbonyl stehen für einen linearen oder verzweigten Alkylrest mit in der Regel 1 bis 6, vorzugsweise 1 bis 4, besonders bevorzugt 1 bis 3 Kohlenstoffatomen, beispielhaft und vorzugsweise für Methyl, Ethyl, n-Propyl, Isopropyl, tert.-Butyl, n-Pentyl und n-Hexyl.

20

Alkoxy steht beispielhaft und vorzugsweise für Methoxy, Ethoxy, n-Propoxy, Isopropoxy, tert.-Butoxy, n-Pentoxy und n-Hexaoxy.

25

Alkylamino steht für einen Alkylaminorest mit einem oder zwei (unabhängig voneinander gewählten) Alkylsubstituenten, beispielhaft und vorzugsweise für Methylamino, Ethylamino, n-Propylamino, Isopropylamino, tert.-Butylamino, n-Pentylamino, n-Hexylamino, N,N-Dimethylamino, N,N-Diethylamino, N-Ethyl-N-methylamino, N-Methyl-N-n-propylamino, N-Isopropyl-N-n-propylamino, N-tert.-Butyl-N-methylamino, N-Ethyl-N-n-pentylamino und N-n-Hexyl-N-methylamino.

30

Alkylaminocarbonyl steht für einen Alkylaminocarbonylrest mit einem oder zwei (unabhängig voneinander gewählten) Alkylsubstituenten, beispielhaft und vorzugsweise für Methylaminocarbonyl, Ethylaminocarbonyl, n-Propylaminocarbonyl, Isopropylaminocarbonyl, tert.-Butylaminocarbonyl, n-Pentylaminocarbonyl, n-Hexylaminocarbonyl, N,N-Dimethylaminocarbonyl, N,N-Diethylaminocarbonyl, N-Ethyl-N-methylaminocarbonyl, N-Methyl-N-n-propylaminocarbonyl, N-Isopropyl-N-n-propylaminocarbonyl, N-t-Butyl-N-methylaminocarbonyl, N-Ethyl-N-n-pentylamino-carbonyl und N-n-Hexyl-N-methylaminocarbonyl.

10 Alkoxycarbonyl steht beispielhaft und vorzugsweise für Methoxycarbonyl, Ethoxy carbonyl, n-Propoxycarbonyl, Isopropoxycarbonyl, tert.-Butoxycarbonyl, n-Pentoxy carbonyl und n-Hexaoxycarbonyl.

15 Cycloalkyl steht für eine Cycloalkylgruppe mit in der Regel 3 bis 8, bevorzugt 5 bis 7 Kohlenstoffatomen, beispielhaft und vorzugsweise für Cyclopropyl, Cyclobutyl, Cyclopentyl, Cyclohexyl, Cycloheptyl und Adamantyl.

20 Aryl steht für einen mono- bis tricyclischen aromatischen, carbocyclischen Rest mit in der Regel 6 bis 14 Kohlenstoffatomen; beispielhaft und vorzugsweise für Phenyl, Naphthyl und Phenanthrenyl.

25 5- bis 10-gliedriges Heteroaryl ("C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>-Heteroaryl") steht im Rahmen der Erfindung für 5- bis 10-gliedrige, Heteroatome enthaltende aromatische Ringe mit wenigstens einem aromatischen Ring, die 1 bis 4 Heteroatome enthalten können, die ausgewählt werden aus O, S und N. Heteroaryl kann seinerseits noch über C oder N substituiert sein. Beispielsweise seien genannt: Pyridyl, Furyl, Thienyl, Pyrrolyl, Imidazolyl, Pyrazolyl, Pyrazinyl, Pyrimidinyl, Pyridazinyl, Indolenyl, Indolyl, Benzo[b]thienyl, Benzo[b]furyl, Indazolyl, Chinolyl, Isochinolyl, Naphthyridinyl, Chinazolinyl, etc.

30 Ein 5- bis 7-gliedriger gesättigter oder teilweise ungesättigter Heterocyclus ("C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub>-Heterocycl") mit bis zu 3 Heteroatomen aus der Reihe S, N und/oder O steht im

Rahmen der Erfindung im allgemeinen für einen mono- oder polycyclischen, vorzugsweise mono- oder bicyclischen Heterocyclus, der eine oder mehrere Doppelbindungen enthalten kann und der über ein Ringkohlenstoffatom oder ein Ringstickstoffatom verknüpft ist. Heterocycl kann seinerseits noch über C oder N substituiert sein. Beispielsweise seien genannt: Tetrahydrofuryl, Pyrrolidin-2-yl, Pyrrolidin-3-yl, Pyrrolinyl, Piperidinyl, Dihydropyridinyl, Piperazinyl, Morpholinyl, Azepinyl, Diazepinyl. Bevorzugt sind Piperidinyl, Morpholinyl und Pyrrolidinyl.

5

Halogen steht für Fluor, Chlor, Brom und Jod, bevorzugt Fluor und Chlor.

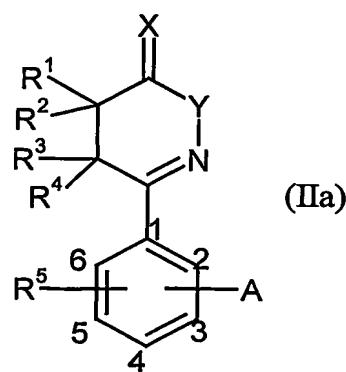
10

Die Verbindungen der Formel (Ia) und (Ib) sind bekannt oder lassen sich nach den folgenden Verfahren herstellen.

Bei Verfahren

15

[A] setzt man Verbindungen der allgemeinen Formel (IIa),



in welcher

20

A über die Positionen 2, 3, 5 oder 6 an den Aromaten gebunden ist und

$R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, A, X$  und  $Y$  die oben angegebene Bedeutung aufweisen,

mit Verbindungen der allgemeinen Formel (IIIa),



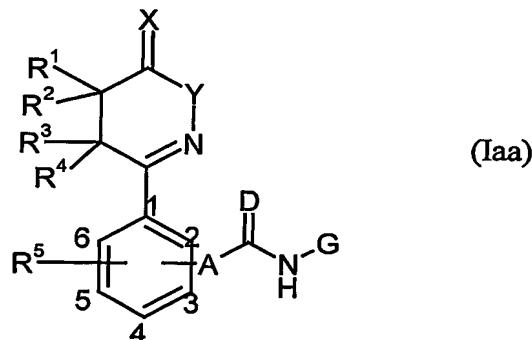
in welcher

5

D und G die oben angegebene Bedeutung aufweisen,

zu Verbindungen der allgemeinen Formel (Iaa),

10



in welcher

A über die Positionen 2, 3, 5 oder 6 an den Aromaten gebunden ist, und

15

$\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$ ,  $\text{R}^4$ ,  $\text{R}^5$ , A, D, G, X und Y die oben angegebene Bedeutung aufweisen,

20

in inerten Lösungsmitteln, hierzu gehören Halogenkohlenwasserstoffe wie Methylchlorid, Trichlormethan, Tetrachlormethan, Trichlorethan, Tetraclorethan, 1,2-Dichlorethan oder Trichlorethylen, Ether wie Diethylether, Methyl-tert.-butylether, 1,2-Dimethoxyethan, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glycoldimethylether oder Diethylenglycoldimethylether, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Xylool, Toluol, Hexan, Cyclohexan oder Erdölfaktionen, oder andere Lösungsmittel wie Ethylacetat, Aceton, Dimethylformamid, Dimethylacetamid, 2-Butanon, Dimethylsulfoxid, Acetonitril oder Pyridin, als

25

5

Lösungsmittel sind bevorzugt Tetrahydrofuran oder Methylenchlorid, gegebenenfalls in Gegenwart einer Base, wie beispielsweise Alkalicarbonate wie Cäsiumcarbonat, Natrium- oder Kaliumcarbonat, oder Kalium-tert.-butylat, oder andere Basen wie Natriumhydrid, DBU, Triethylamin oder Diisopropylethylamin, bevorzugt Triethylamin, bevorzugt in einem Temperaturbereich von Raumtemperatur bis zum Rückfluss der Lösungsmittel bei Normaldruck, um.

10

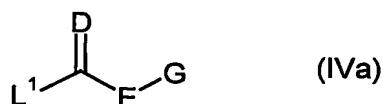
Die Verbindungen der allgemeinen Formel (IIa) werden im Folgenden als (IIaa), (IIba) und (IIca) dargestellt.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel (IIIa) sind bekannt oder lassen sich nach bekannten Verfahren aus den entsprechenden Edukten synthetisieren.

15

#### Bei Verfahren

[B] setzt man Verbindungen der allgemeinen Formel (IIa) mit Verbindungen der allgemeinen Formel (IVa),



20

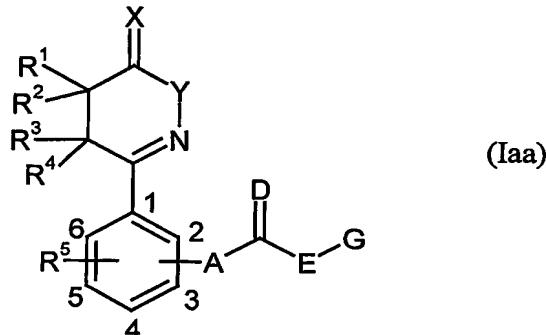
in welcher

D, E und G die oben angegebene Bedeutung aufweisen, und

25

$\text{L}^1$  für p-Nitrophenyl oder Halogen, bevorzugt Brom oder Chlor, steht,

zu Verbindungen der allgemeinen Formel (Iaa),



in welcher

5

A über die Positionen 2, 3, 5 oder 6 an den Aromaten gebunden ist, und

$R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, A, D, E, G, X$  und  $Y$  die oben angegebene Bedeutung aufweisen,

10

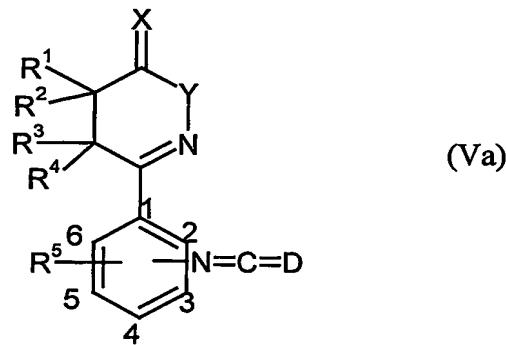
in inerten Lösungsmitteln, hierzu gehören Halogenkohlenwasserstoffe wie Methylenchlorid, Trichlormethan, Tetrachlormethan, Trichlorethan, Tetrachlorethan, 1,2-Dichlorethan oder Trichlorethylen, Ether wie Diethylether, Methyl-tert.-butylether, 1,2-Dimethoxyethan, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glykoldimethylether oder Diethylenglykoldimethylether, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Xylol, Toluol, Hexan, Cyclohexan oder Erdölfraktionen, oder andere Lösungsmittel wie Ethylacetat, Aceton, Dimethylformamid, Dimethylacetamid, 2-Butanon, Acetonitril oder Pyridin, als Lösungsmittel sind bevorzugt Tetrahydrofuran oder Methylenchlorid, gegebenenfalls in Gegenwart einer Base, wie beispielsweise Alkalicarbonate wie Cäsiumcarbonat, Natrium- oder Kaliumcarbonat, oder Kalium-tert.-butylat, oder andere Basen wie Natriumhydrid, DBU, Triethylamin oder Diisopropylethylamin, bevorzugt Triethylamin, bevorzugt in einem Temperaturbereich von Raumtemperatur bis zum Rückfluss der Lösungsmittel bei Normalsdruck, um.

15  
20

Die Verbindungen der allgemeinen Formel (IVa) sind bekannt oder lassen sich nach bekannten Verfahren aus den entsprechenden Edukten synthetisieren.

5 Bei Verfahren

[C] setzt man Verbindungen der allgemeinen Formel (Va),



10 in welcher

-NCD über die Positionen 2, 3, 5 oder 6 an den Aromaten gebunden ist, und

$R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, D, X$  und  $Y$  die oben angegebene Bedeutung aufweisen,

15

mit Verbindungen der allgemeinen Formel (VIa),



20 in welcher

$G$  die oben angegebene Bedeutung aufweist, und

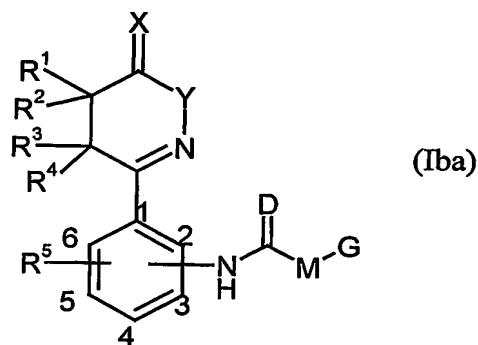
M für Sauerstoff oder  $NR^7$  steht,

25

worin

$R^7$  die oben angegebene Bedeutung aufweist,

5 zu Verbindungen der allgemeinen Formel (Iba),



in welcher

10  $-NH-C(D)-M-G$  über die Positionen 2, 3, 5 oder 6 an den Aromaten gebunden ist, und

$R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, D, G, M, X$  und  $Y$  die oben angegebene Bedeutung aufweisen,

15

in inerten Lösungsmitteln, hierzu gehören Halogenkohlenwasserstoffe wie Methylenchlorid, Trichlormethan, Tetrachlormethan, Trichlorethan, Tetra-chlorethan, 1,2-Dichlorethan oder Trichlorethylen, Ether wie Diethylether, Methyl-tert.-butylether, 1,2-Dimethoxyethan, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glycoldimethylether oder Diethylenglycoldimethylether, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Xylol, Toluol, Hexan, Cyclohexan oder Erdölfraktionen, oder andere Lösungsmittel wie Ethylacetat, Aceton, Dimethylformamid, Dimethyl-acetamid, 2-Butanon, Dimethylsulfoxid, Acetonitril oder Pyridin, als Lösungsmittel sind bevorzugt Tetrahydrofuran oder Methylenchlorid, gegebenenfalls in Gegenwart einer Base, wie beispielsweise Alkalicarbonate wie

20

25

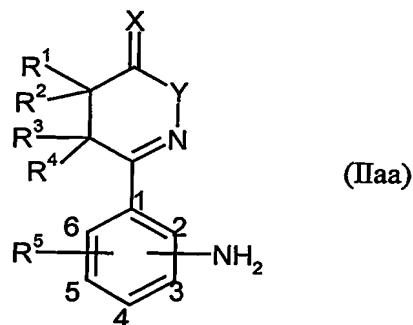
5

Cäsiumcarbonat, Natrium- oder Kaliumcarbonat, oder Kalium-tert.-butylat, oder andere Basen wie Natriumhydrid, DBU, Triethylamin oder Diisopropylethylamin, bevorzugt Triethylamin, bevorzugt in einem Temperaturbereich von Raumtemperatur bis zum Rückfluss der Lösungsmittel bei Normaldruck, um.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel (VIa) sind bekannt oder lassen sich nach bekannten Verfahren aus den entsprechenden Edukten synthetisieren.

10

Zur Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formel (IIaa),



in welcher

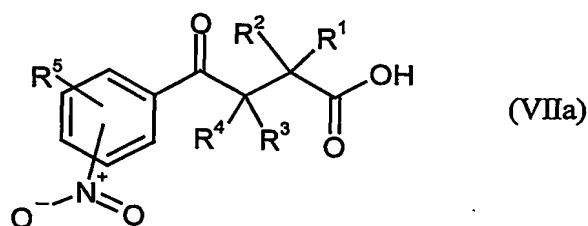
15

NH<sub>2</sub> über die Positionen 2, 3, 5 oder 6 an den Aromaten gebunden ist und

R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, X und Y die oben angegebene Bedeutung aufweisen,

setzt man Verbindungen der allgemeinen Formel (VIIa),

20



in welcher

NO<sub>2</sub> über die Positionen 2, 3, 5 oder 6 an den Aromaten gebunden ist und

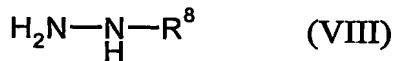
R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> und R<sup>5</sup> die oben angegebene Bedeutung aufweisen,

5

im Falle, wenn für X Sauerstoff steht,

zunächst mit Hydrazin, Hydroxylamin oder einer Verbindung der allgemeinen Formel (VIIIa),

10



in welcher

R<sup>8</sup> die oben angegebene Bedeutung aufweist,

15

um und reduziert anschließend die Nitrogruppe zur Aminogruppe. Diese beiden Reaktionen können in ein oder zwei Reaktionsschritten stattfinden.

20

Bei einem einstufigen Verfahren wird mit Hydrazin und mit Palladium auf Kohle gleichzeitig in inerten Lösungsmitteln, hierzu gehören Ether wie Diethylether, Methyl-tert.-butylether, 1,2-Dimethoxyethan, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glykoldimethylether oder Diethylenglykoldimethylether, Alkohole wie Methanol, Ethanol, n-Propanol, iso-Propanol, n-Butanol oder tert.-Butanol, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Xylool, Toluol, Hexan, Cyclohexan oder Erdölfraktionen, oder andere Lösungsmittel wie Dimethylacetamid, Acetonitril oder Pyridin, als Lösungsmittel sind bevorzugt Ethanol oder iso-Propanol, bevorzugt in einem Temperaturbereich von Raumtemperatur bis zum Rückfluss der Lösungsmittel bei Normaldruck, umgesetzt.

25

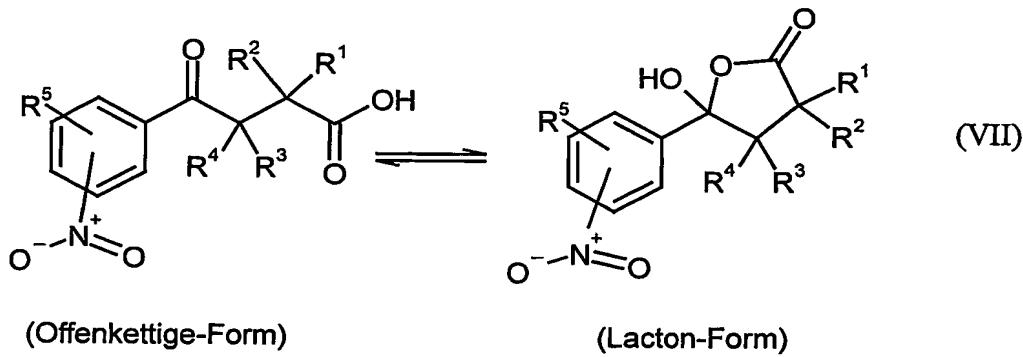
Bei einem zweistufigen Verfahren wird zunächst mit Hydrazin, Hydroxylamin oder einer Verbindung der allgemeinen Formel (VIIIa) in inerten Lösungsmitteln, hierzu gehören Ether wie Diethylether, Methyl-tert.-butylether, 1,2-Dimethoxyethan, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glykoldimethylether oder Diethylenglykoldimethylether, 5 Alkohole wie Methanol, Ethanol, n-Propanol, iso-Propanol, n-Butanol oder tert.-Butanol, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Xylol, Toluol, Hexan, Cyclohexan oder Erdölfraktionen, oder andere Lösungsmittel wie Dimethylformamid, Dimethylacetamid, Acetonitril oder Pyridin, als Lösungsmittel sind bevorzugt Ethanol oder iso-Propanol, bevorzugt in einem Temperaturbereich von Raumtemperatur bis zum 10 Rückfluss der Lösungsmittel bei Normaldruck, umgesetzt.

In der zweiten Stufe wird mit Wasserstoffdonoren, bevorzugt Hydrazin oder Wasserstoff und mit Palladium auf Kohle, oder mit Zinndichlorid in inerten Lösungsmitteln, hierzu gehören Ether wie Diethylether, Methyl-tert.-butylether, 1,2-Dimethoxyethan, 15 Dioxan, Tetrahydrofuran, Glykoldimethylether oder Diethylenglykoldimethylether, Alkohole wie Methanol, Ethanol, n-Propanol, iso-Propanol, n-Butanol oder tert.-Butanol, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Xylol, Toluol, Hexan, Cyclohexan oder Erdölfraktionen, oder andere Lösungsmittel wie Ethylacetat, Dimethylformamid, Dimethylacetamid, Acetonitril oder Pyridin, als Lösungsmittel sind bevorzugt 20 Ethanol, iso-Propanol oder im Falle von Zinndichlorid in Dimethylformamid, bevorzugt in einem Temperaturbereich von Raumtemperatur bis zum Rückfluss der Lösungsmittel bei Normaldruck bis 3 bar, umgesetzt.

- Im Falle, wenn für X Schwefel steht,
- 25 wird zunächst mit Hydrazin, Hydroxylamin oder einer Verbindung der allgemeinen Formel (VIIIa) umgesetzt, dann mit Lawesson-Reagenz der Sauerstoff gegen Schwefel ausgetauscht und anschließend die Nitrogruppe zur Aminogruppe reduziert.
- 30 In der ersten Stufe wird zunächst mit Hydrazin, Hydroxylamin oder einer Verbindung der allgemeinen Formel (VIIIa) in inerten Lösungsmitteln, hierzu gehören Ether wie

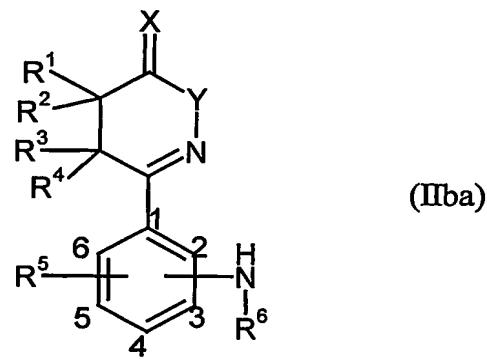
- Diethylether, Methyl-tert.-butylether, 1,2-Dimethoxyethan, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glykoldimethylether oder Diethylenglykoldimethylether, Alkohole wie Methanol, Ethanol, n-Propanol, iso-Propanol, n-Butanol oder tert.-Butanol, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Xylol, Toluol, Hexan, Cyclohexan oder Erdölfraktionen, oder andere Lösungsmittel wie Dimethylformamid, Dimethylacetamid, Acetonitril oder Pyridin, als Lösungsmittel sind bevorzugt Ethanol oder iso-Propanol, bevorzugt in einem Temperaturbereich von Raumtemperatur bis zum Rückfluss der Lösungsmittel bei Normaldruck, umgesetzt.
- In der zweiten Stufe wird mit Lawesson-Reagenz in inerten Lösungsmitteln, hierzu gehören Halogenkohlenwasserstoffe wie Methylenchlorid, Trichlormethan, Tetrachlormethan, Trichlorethan, Tetrachlorethan, 1,2-Dichlorethan oder Trichlorethylen, Ether wie Diethylether, Methyl-tert.-butylether, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glykoldimethylether oder Diethylenglykoldimethylether, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Xylol, Toluol, Hexan, Cyclohexan oder Erdölfraktionen, oder andere Lösungsmittel wie Nitromethan, 1,2-Dimethoxyethan, Dimethylsulfoxid oder Pyridin, bevorzugt sind Toluol, Xylol oder Dioxan, bevorzugt in einem Temperaturbereich von Raumtemperatur bis zum Rückfluss der Lösungsmittel bei Normaldruck, durchgeführt.
- In der dritten Stufe wird mit Wasserstoffdonoren, bevorzugt Hydrazin oder Wasserstoff und mit Palladium auf Kohle, oder mit Zinndichlorid in inerten Lösungsmitteln, hierzu gehören Ether wie Diethylether, Methyl-tert.-butylether, 1,2-Dimethoxyethan, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glykoldimethylether oder Diethylenglykoldimethylether, Alkohole wie Methanol, Ethanol, n-Propanol, iso-Propanol, n-Butanol oder tert.-Butanol, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Xylol, Toluol, Hexan, Cyclohexan oder Erdölfraktionen, oder andere Lösungsmittel wie Dimethylformamid, Dimethylacetamid, Acetonitril oder Pyridin, als Lösungsmittel sind bevorzugt Ethanol, iso-Propanol oder im Falle von Zinndichlorid in Dimethylformamid, bevorzugt in einem Temperaturbereich von Raumtemperatur bis zum Rückfluss der Lösungsmittel bei Normaldruck bis 3 bar, umgesetzt.

Verbindungen der allgemeinen Formel (VIIa) können in zwei verschiedenen Formen vorliegen. Im Verlaufe der Beschreibung der Verfahren wird nur die Offenkettige-Form gezeichnet.



5

Zur Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formel (IIba),



10

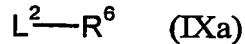
in welcher

$\text{NHR}^6$  über die Positionen 2, 3, 5 oder 6 an den Aromaten gebunden ist und

$\text{R}^1, \text{R}^2, \text{R}^3, \text{R}^4, \text{R}^5, \text{R}^6, \text{X}$  und  $\text{Y}$  die oben angegebene Bedeutung aufweisen,

15

setzt man Verbindungen der allgemeinen Formel (IIaa) mit Verbindungen der allgemeinen Formel (IXa),



in welcher

$R^6$  die oben angegebene Bedeutung aufweist, und

5

$L^2$  für Halogen, bevorzugt Brom oder Iod, steht,

in inerten Lösungsmitteln, hierzu gehören Ether wie Diethylether, Methyl-tert.-butylether, 1,2-Dimethoxyethan, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glykoldimethylether oder Diethylenglykoldimethylether, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Xylol, Toluol, Hexan, Cyclohexan oder Erdölfaktionen, oder andere Lösungsmittel wie Dimethylformamid, Dimethylacetamid, Acetonitril oder Pyridin, als Lösungsmittel sind bevorzugt Tetrahydrofuran oder Diethylether, gegebenenfalls in Gegenwart einer Base, wie beispielsweise Alkalihydroxide wie Natrium- oder Kaliumhydroxid, oder Alkalicarbonate wie Cäsiumcarbonat, Natrium- oder Kaliumcarbonat, oder Amide wie Natriumamid, Lithium-bis-(trimethylsilyl)amid, Lithiumdiisopropylamid, oder metallorganische Verbindungen wie Butyllithium oder Phenyllithium, oder andere Basen wie Natriumhydrid, DBU, Triethylamin oder Diisopropylethylamin, bevorzugt Diisopropylethylamin, Kalium-tert.-butylat oder DBU, bevorzugt in einem Temperaturbereich von Raumtemperatur bis zum Rückfluss der Lösungsmittel bei Normaldruck, umgesetzt.

10

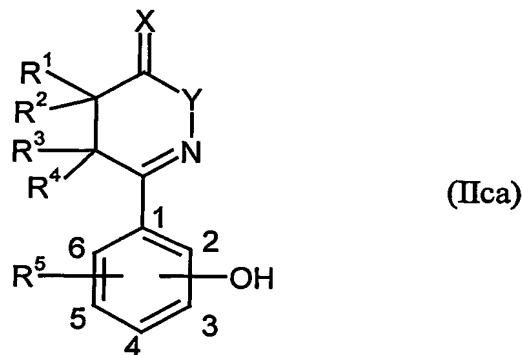
15

20

Die Verbindungen der allgemeinen Formel (IXa) sind bekannt oder lassen sich nach bekannten Verfahren aus den entsprechenden Edukten synthetisieren.

25

Zur Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formel (IIca),



in welcher

5

OH über die Positionen 2, 3, 5 oder 6 an den Aromaten gebunden ist und

$R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, X$  und  $Y$  die oben angegebene Bedeutung aufweisen,

- 10 stellt man aus Verbindungen der allgemeinen Formel (IIaa) zunächst die Diazoniumverbindungen nach den dem Fachmann bekannten Methoden her und verkocht diese anschließend zu den Phenolen (vgl. Organikum, 17. Auflage, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin, S. 543).

15

Zur Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formel (Va) werden Verbindungen der allgemeinen Formel (IIaa)

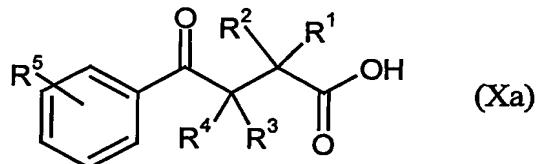
mit Chlorameisensäuretrichlormethylester

- 20 in inerten Lösungsmitteln, hierzu gehören Halogenkohlenwasserstoffe wie Methylenchlorid, Trichlormethan, Tetrachlormethan, Trichlorethan, Tetrachlorethan, 1,2-Dichlorethan oder Trichlorethylen, Ether wie Diethylether, Methyl-tert.-butylether, 1,2-Dimethoxyethan, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glycoldimethylether oder Diethylen-glycoldimethylether, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Xylol, Toluol, Hexan, Cyclohexan oder Erdölfaktionen, oder andere Lösungsmittel wie Ethylacetat, Aceton,
- 25

Dimethylformamid, Dimethylacetamid, 2-Butanon, Acetonitril oder Pyridin umgesetzt. Als Lösungsmittel sind bevorzugt Tetrahydrofuran oder Dichlormethan, gegebenenfalls in Gegenwart einer Base, wie beispielsweise 1,8-Bis-(dimethylamino)naphthalin, DBU, Triethylamin oder Diisopropylethylamin, bevorzugt 1,8-Bis-(dimethylamino)naphthalin, bevorzugt in einem Temperaturbereich von Raumtemperatur bis zum Rückfluss der Lösungsmittel bei Normaldruck.

Zur Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formel (VIIa) setzt man Verbindungen der allgemeinen Formel (Xa),

10



in welcher

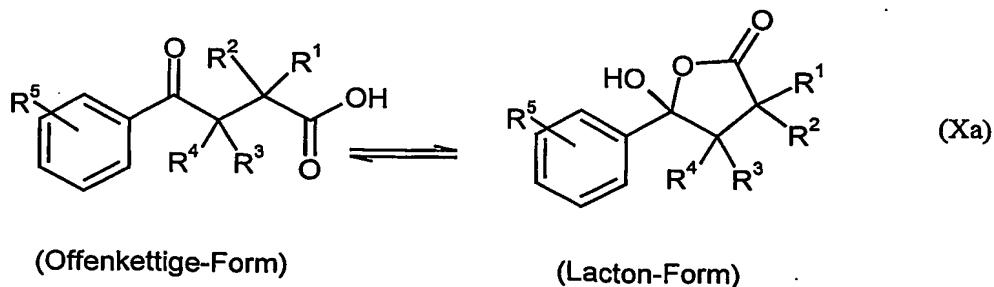
$R^1, R^2, R^3, R^4$  und  $R^5$  die oben angegebene Bedeutung aufweisen.

15

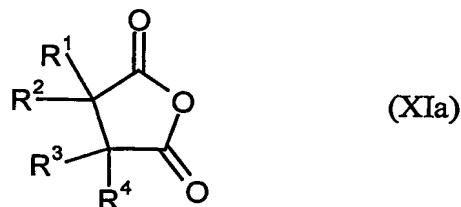
mit rauchender Salpetersäure, konzentrierter Salpetersäure oder Nitriersäure bevorzugt in einem Temperaturbereich von -30°C bis 0°C bei Normaldruck, um

20

Verbindungen der allgemeinen Formel (Xa) können in zwei verschiedenen Formen vorliegen. Im Verlaufe der Beschreibung der Verfahren wird nur die Offenkettige-Form gezeichnet.



Zur Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formel (Xa) werden Verbindungen der allgemeinen Formel (XIa),



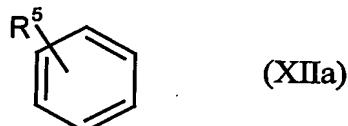
5

in welcher

$R^1, R^2, R^3$  und  $R^4$  die oben angegebene Bedeutung aufweisen,

10

mit Verbindungen der allgemeinen Formel (XIIa),



in welcher

15

$R^5$  die oben angegebene Bedeutung aufweist,

mit Lewissäuren, bevorzugt Aluminiumtrichlorid,

20

in inerten Lösungsmitteln, hierzu gehören Halogenkohlenwasserstoffe wie Methylenchlorid, Trichlormethan, Tetrachlormethan, Trichlorethan, Tetrachlorethan, 1,2-Dichlorethan oder Trichlorethylen, Ether wie Diethylether, Methyl-tert.-butylether, 1,2-Dimethoxyethan, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glycoldimethylether oder Diethylen-glycoldimethylether, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Nitrobenzol, Hexan, Cyclohexan oder Erdölfraktionen, oder anderen Lösungsmittel wie Ethylacetat, Aceton, Dimethylformamid, Dimethylacetamid, 2-Butanon, Dimethylsulfoxid, Acetonitril oder

25

Pyridin (als Lösungsmittel ist bevorzugt 1,2-Dichlorethan) bevorzugt in einem Temperaturbereich von -20 °C bis Raumtemperatur bei Normaldruck, umgesetzt.

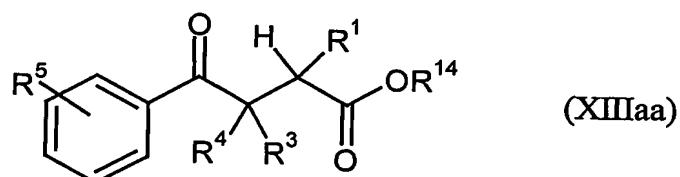
Die Verbindungen der allgemeinen Formel (XIa) und (XIIa) sind bekannt oder lassen sich nach bekannten Verfahren aus den entsprechenden Edukten synthetisieren.

Als alternativen Syntheseweg setzt man zur Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formel (Xaa), welches Verbindungen der allgemeinen Formel (Xa) sind, in denen

10

$R^2$  für Wasserstoff steht,

Verbindungen der allgemeinen Formel (XIIIaa),



15

in welcher

$R^1$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  und  $R^5$  die oben angegebene Bedeutung aufweisen, und

20

$R^{14}$  für ( $C_1-C_6$ )-Alkyl, bevorzugt Methyl und Ethyl, steht,

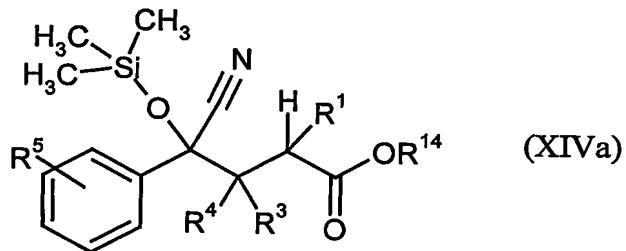
mit Basen, wie beispielsweise Alkalihydroxide wie Natrium-, Lithium- oder Kaliumhydroxid, oder Alkalicarbonate wie Cäsiumpcarbonat, Natrium- oder Kaliumcarbonat, bevorzugt Natriumhydroxid, in inerten Lösungsmitteln, hierzu gehören Halogenkohlenwasserstoffe wie Methylenchlorid, Trichlormethan, Tetrachlormethan, Trichlorethan, Tetrachlorethan, 1,2-Dichlorethan oder Trichlorethylen, Ether wie Diethylether, Methyl-tert.-butylether, 1,2-Dimethoxyethan, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glycoldimethylether oder Diethylenglycoldimethylether, Alkohole wie Methanol,

25

Ethanol, n-Propanol, iso-Propanol, n-Butanol oder tert.-Butanol, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Xylol, Toluol, Hexan, Cyclohexan oder Erdölfraktionen, oder andere Lösungsmittel wie Dimethylformamid, Dimethylacetamid, Dimethylsulfoxid, Acetonitril oder Pyridin, oder Gemischen von Lösungsmitteln (als Lösungsmittel sind bevorzugt Tetrahydrofuran und/oder Methanol) bevorzugt in einem Temperaturbereich von 0°C bis Raumtemperatur bei Normaldruck, um.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel (Xa) können auch analog zu dem für Verfahren der Verbindungen der allgemeinen Formel (Xaa) beschriebenen Syntheseweg aus den Verbindungen der allgemeinen Formel (XIIIa) hergestellt werden.

Zur Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formel (XIIIaa) setzt man Verbindungen der allgemeinen Formel (XIVa),



15

in welcher

$\text{R}^1, \text{R}^3, \text{R}^4, \text{R}^5$  und  $\text{R}^{14}$  die oben angegebene Bedeutung aufweisen,

20 mit Tetrabutylammoniumfluorid

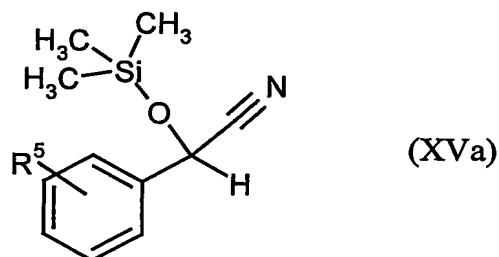
in inerten Lösungsmitteln, hierzu gehören Halogenkohlenwasserstoffe wie Methylenchlorid, Trichlormethan, Tetrachlormethan, Trichlorethan, Tetrachlorethan, 1,2-Dichlorethan oder Trichlorethylen, Ether wie Diethylether, Methyl-tert.-butylether, 1,2-Dimethoxyethan, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glycoldimethylether oder Diethylen-glycoldimethylether, Alkohole wie Methanol, Ethanol, n-Propanol, iso-Propanol, n-Butanol oder tert.-Butanol, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Xylol, Toluol, Hexan,

25

Cyclohexan oder Erdölfraktionen, oder andere Lösungsmittel wie Nitromethan, Ethylacetat, Aceton, Dimethylformamid, Dimethylacetamid, 2-Butanon, Dimethylsulfoxid, Acetonitril oder Pyridin (als Lösungsmittel ist bevorzugt Tetrahydrofuran) bevorzugt in einem Temperaturbereich von 0°C bis Raumtemperatur bei Normaldruck um.

5

Zur Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formel (XIVa) setzt man Verbindungen der allgemeinen Formel (XVa),



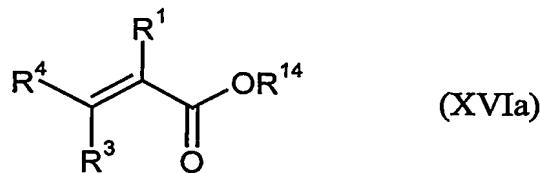
10

in welcher

$R^5$  die oben angegebene Bedeutung aufweist,

15

mit Verbindungen der allgemeinen Formel (XVIa),



in welcher

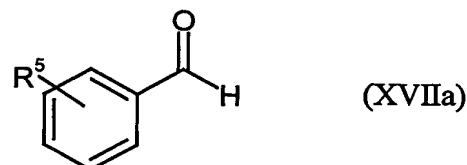
20  $R^1$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  und  $R^{14}$  die oben angegebene Bedeutung aufweisen,

in inerten Lösungsmitteln, hierzu gehören Ether wie Diethylether, Methyl-tert.-butylether, 1,2-Dimethoxyethan, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glykoldimethylether oder Diethylenglykoldimethylether, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Ethylbenzol, Xylool,

Toluol, Hexan, Heptan, Cyclohexan oder Erdölfraktionen, oder andere Lösungsmittel wie Dimethylformamid, Dimethylacetamid, Acetonitril oder Pyridin, oder Gemische der Lösungsmittel, als Lösungsmittel sind bevorzugt Diethylether, Tetrahydrofuran, Heptan und/oder Ethylbenzol, gegebenenfalls in Gegenwart einer Base, wie beispielweise Alkalihydroxide wie Natrium- oder Kaliumhydroxid, oder Alkalicarbonate wie Cäsiumcarbonat, Natrium- oder Kaliumcarbonat, oder Natrium- oder Kaliummethanolat, oder Natrium- oder Kaliummethanolat oder Kalium-tert.butylat, oder Amide wie Natriumamid, Lithium-bis-(trimethylsilyl)amid, Lithiumdiisopropylamid, oder metallorganische Verbindungen wie Butyllithium oder Phenyllithium, oder andere Basen wie Natriumhydrid, DBU, Triethylamin oder Diisopropylethylamin, bevorzugt Lithiumdiisopropylamid, bevorzugt in einem Temperaturbereich von -78°C bis Raumtemperatur bei Normaldruck, um.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel (XVIa) sind bekannt oder lassen sich nach bekannten Verfahren aus den entsprechenden Edukten synthetisieren.

Zur Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formel (XVa) setzt man Verbindungen der allgemeinen Formel (XVIIa),



20

in welcher

R<sup>5</sup> die oben angegebene Bedeutung aufweist,

25 mit Trimethylsilylcyanid und Zinkiodid

gegebenenfalls in inerten Lösungsmitteln, hierzu gehören Halogenkohlenwasserstoffe wie Methylenchlorid, Trichlormethan, Tetrachlormethan, Trichlorethan, Tetrachlor-

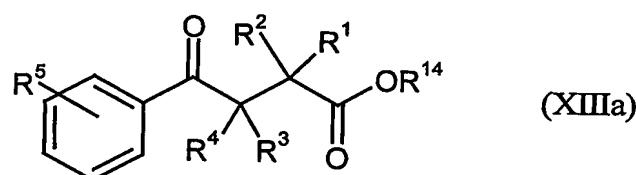
ethan, 1,2-Dichlorethan oder Trichlorethylen, Ether wie Diethylether, Methyl-tert.-butylether, 1,2-Dimethoxyethan, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glykoldimethylether oder Diethylenglykoldimethylether, Alkohole wie Methanol, Ethanol, n-Propanol, iso-Propanol, n-Butanol oder tert.-Butanol, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Xylool,  
 5 Toluol, Hexan, Cyclohexan oder Erdölfraktionen, oder andere Lösungsmittel wie Nitromethan, Ethylacetat, Aceton, Dimethylformamid, Dimethylacetamid, 2-Butanon, Dimethylsulfoxid, Acetonitril oder Pyridin (als Lösungsmittel bevorzugt ist Tetrahydrofuran) bevorzugt in einem Temperaturbereich von Raumtemperatur bis 100°C bei Normaldruck, um.

10

Die Verbindungen der allgemeinen Formel (XVIIa) sind bekannt oder lassen sich nach bekannten Verfahren aus den entsprechenden Edukten synthetisieren.

Zur Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formel (XIIIa),

15

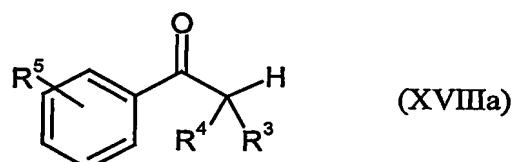


in welcher

$\text{R}^1, \text{R}^2, \text{R}^3, \text{R}^4, \text{R}^5$  und  $\text{R}^{14}$  die oben angegebene Bedeutung aufweisen,

20

setzt man Verbindungen der allgemeinen Formel (XVIIIa),

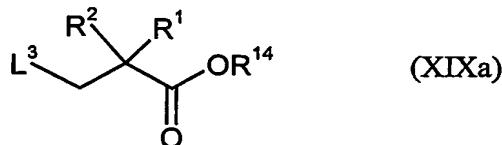


in welcher

25

$R^3$ ,  $R^4$  und  $R^5$  die oben angegebene Bedeutung aufweisen,

mit Verbindungen der allgemeinen Formel (XIXa),



5

in welcher

$R^1$ ,  $R^2$  und  $R^{14}$  die oben angegebene Bedeutung aufweisen, und

10       $L^3$       für Halogen, bevorzugt Brom oder Iod, steht,

in inerten Lösungsmitteln, hierzu gehören Ether wie Diethylether, Methyl-tert.-butylether, 1,2-Dimethoxyethan, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glykoldimethylether oder Diethylenglykoldimethylether, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Ethylbenzol, Xylol,

15      Toluol, als Lösungsmittel sind bevorzugt Tetrahydrofuran oder Toluol, gegebenenfalls in Gegenwart einer Base, wie beispielsweise Amide wie Natriumamid, Lithiumhexamethyldisilazid, Kaliumhexamethyldisilazid, Lithiumdiisopropylamid, oder andere Basen wie Natriumhydrid, DBU oder Diisopropylethylamin, bevorzugt Natriumamid, Lithiumhexamethyldisilazid, Kaliumhexamethyldisilazid oder Lithiumdiisopropylamid, bevorzugt in einem Temperaturbereich von -78°C bis Raumtemperatur bei Normaldruck, um.

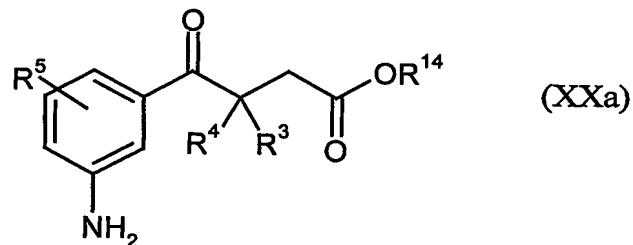
20

Die Verbindungen der allgemeinen Formel (XVIIIa) und (XIXa) sind bekannt oder lassen sich nach bekannten Verfahren aus den entsprechenden Edukten synthetisieren  
25      (für (XVIIIa) vgl. M.R. Schneider, H. Ball, J. Med. Chem. 1986, 29, 75-79; Robl, et al., Synthesis 1991, 56; J. Org. Chem. 1996, 61, 607).

In einem alternativen Syntheseweg zur Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formel (IIaaa), welches Verbindungen der allgemeinen Formel (IIaa) sind, in denen

5 R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> für Wasserstoff stehen,

setzt man Verbindungen der allgemeinen Formel (XXa),



in welcher

10

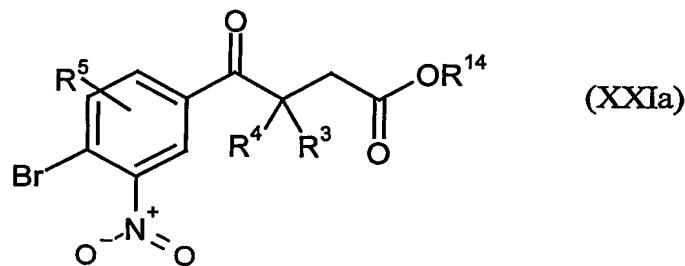
R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> und R<sup>14</sup> die oben angegebene Bedeutung aufweisen,

mit Hydrazin um. Die Umsetzung erfolgt analog der ersten Stufe des zweistufigen Verfahrens, das zur Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formel (IIaa) be-

15

schieben ist.

Zur Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formel (XXa), setzt man Verbindungen der allgemeinen Formel (XXIa),



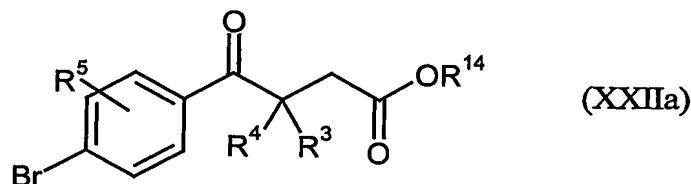
20 in welcher

R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> und R<sup>14</sup> die oben angegebene Bedeutung aufweisen,

mit Reduktionsmitteln um. Die Umsetzung erfolgt analog der zweiten Stufe des zweistufigen Verfahrens, das zur Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formel (IIa) beschrieben ist.

5

Zur Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formel (XXIa), setzt man Verbindungen der allgemeinen Formel (XXIIa),



in welcher

10

$\text{R}^3$ ,  $\text{R}^4$ ,  $\text{R}^5$  und  $\text{R}^{14}$  die oben angegebene Bedeutung aufweisen,

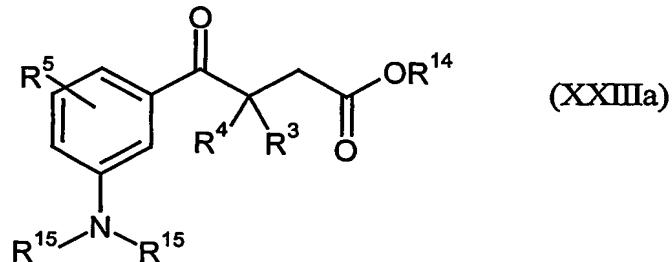
mit rauchender Salpetersäure, konzentrierter Salpetersäure oder Nitriersäure analog des Verfahrens, das zur Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formel (VIIa) beschrieben ist, um.

15

Die Verbindungen der allgemeinen Formel (XXIIa) lassen sich nach dem für die Verbindungen der allgemeinen Formel (XIIIa) beschriebenen Verfahren aus den entsprechenden Edukten synthetisieren.

20

In einem alternativen Syntheseweg zur Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formel (XXa), setzt man Verbindungen der allgemeinen Formel (XXIIIa),



in welcher

$R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$  und  $R^{14}$  die oben angegebene Bedeutung aufweisen,

5 und

$R^{15}$  für Allyl oder Benzyl steht,

10 im Falle von Benzyl mit Reduktionsmitteln um. Die Umsetzung erfolgt analog der zweiten Stufe des zweistufigen Verfahrens, das zur Herstellung der Verbindungen der allgemeinen Formel (IIaa) beschrieben ist.

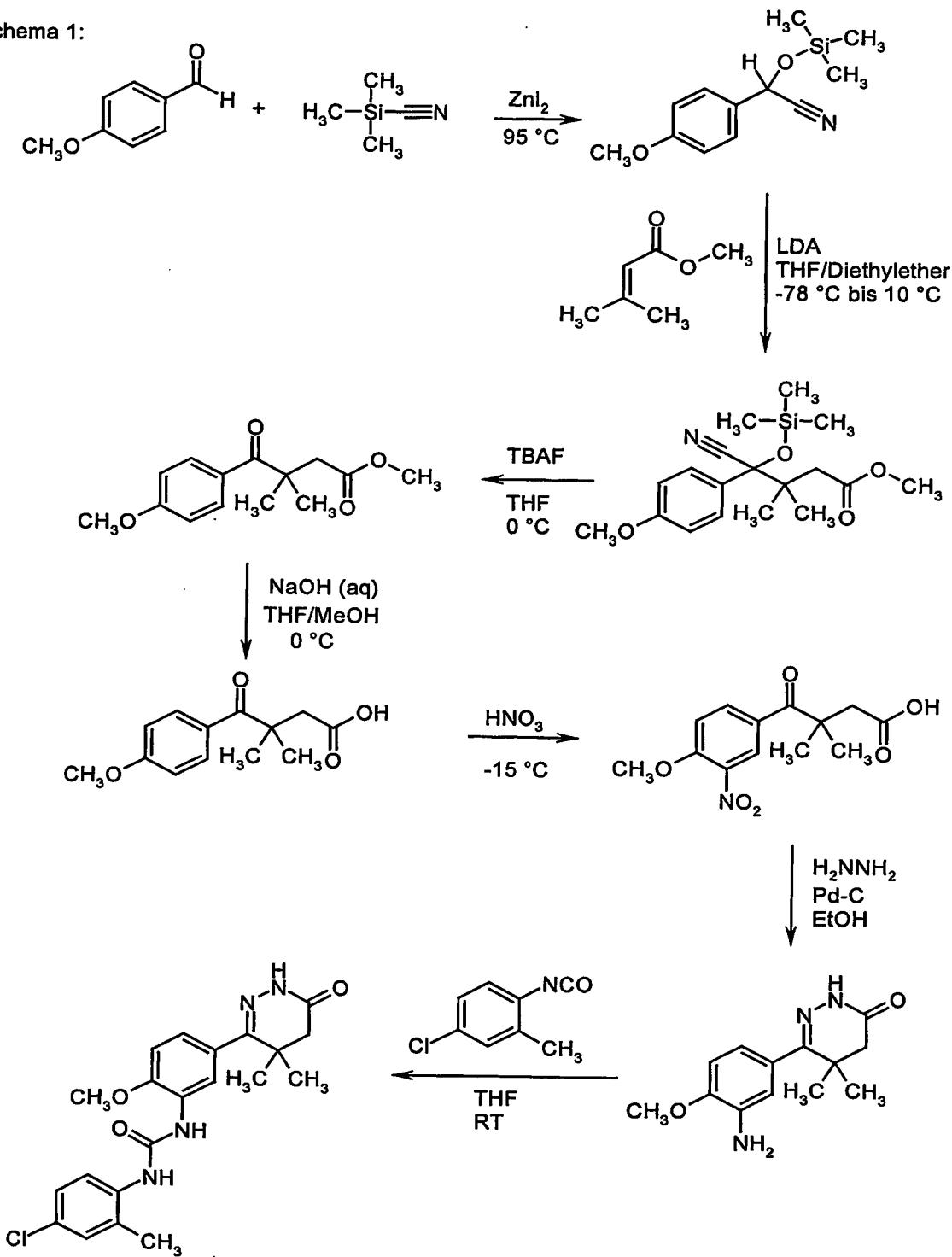
15 Im Falle von Allyl wird ein Verfahren mit Tetrakis(triphenylphosphine)palladium und N,N-Dimethylbarbitursäure verwendet, vergl. F. Garro-Helion, A. Merzouk, F. Guibe, J. Org. Chem. 1993, 58, 6109-6113.

20 Die Verbindungen der allgemeinen Formel (XXIIIa) lassen sich nach dem für die Verbindungen der allgemeinen Formel (XIIIa) beschriebenen Verfahren aus den entsprechenden Edukten synthetisieren.

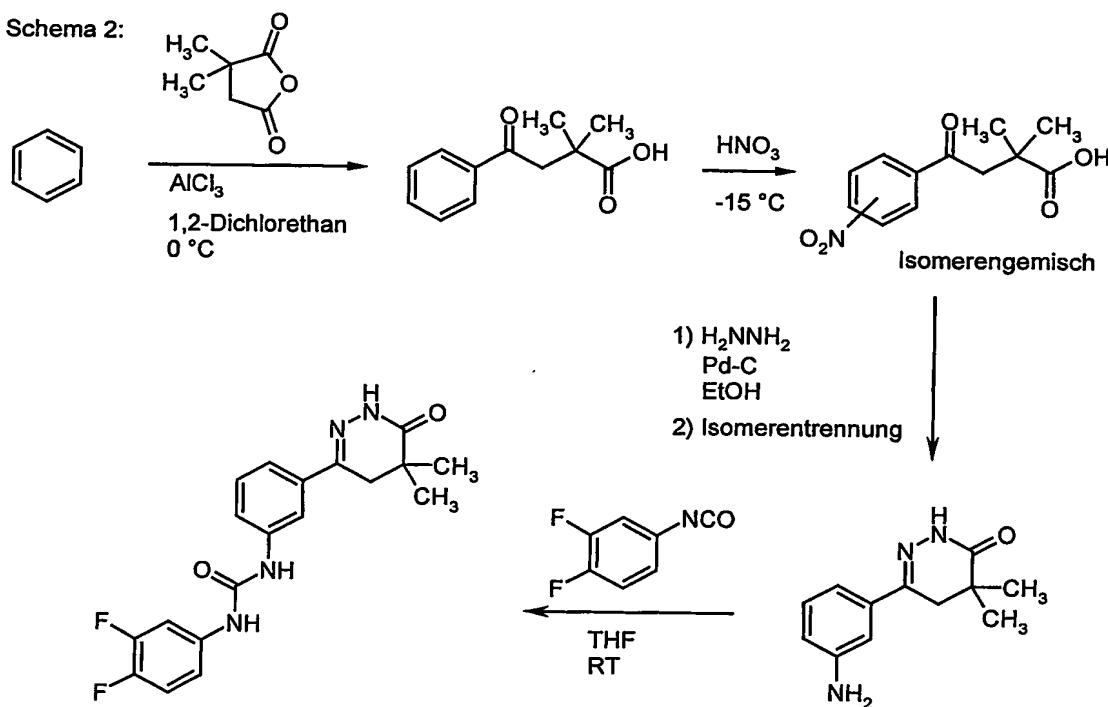
Die oben beschriebenen Verfahren können durch die folgenden Formelschemata beispielhaft erläutert werden:

- 50 -

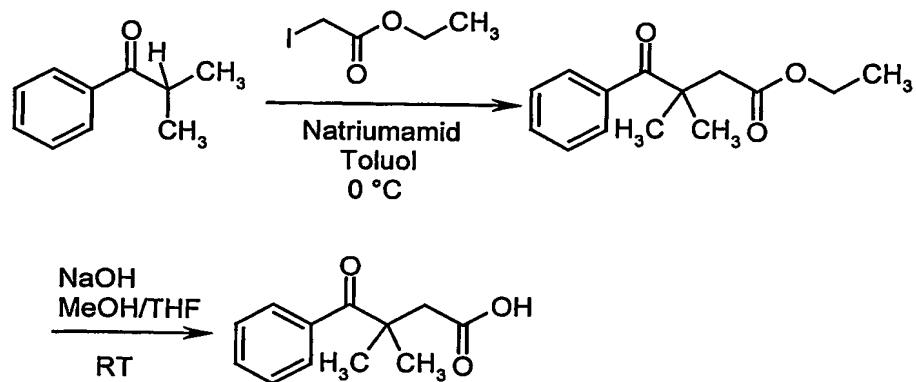
Schema 1:



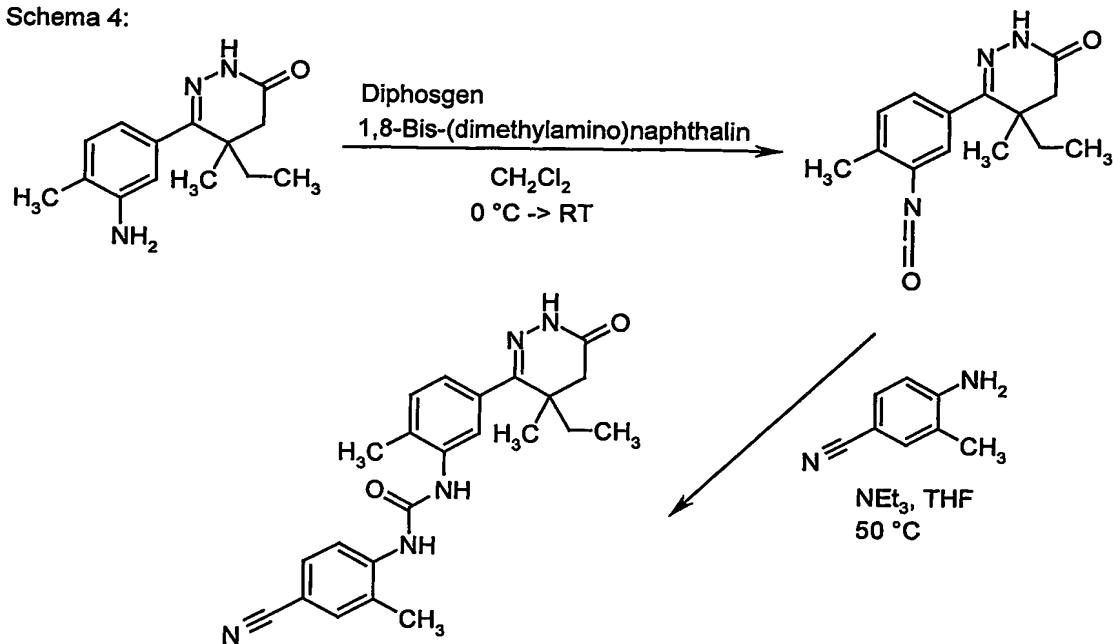
Schema 2:



Schema 3:



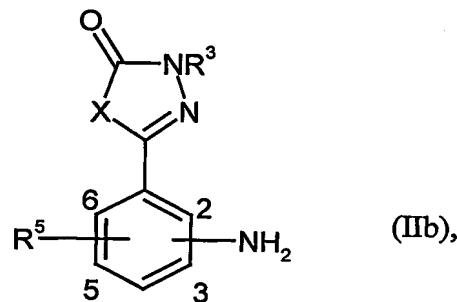
Schema 4:



Bei Verfahren

5

[D] setzt man Verbindungen der allgemeinen Formel (IIb),

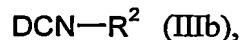


in welcher

10

NH<sub>2</sub> über eine der Positionen 2, 3, 5 oder 6 an den Aromaten gebunden ist, undX, R<sup>3</sup> und R<sup>5</sup> die oben angegebene Bedeutung haben,

mit Verbindungen der Formel (IIIb)



- 5 in welcher R<sup>2</sup> und D die oben angegebene Bedeutung haben, umgesetzt werden.

Die Umsetzung erfolgt in inerten Lösungsmitteln, gegebenenfalls in Gegenwart einer Base, bevorzugt in einem Temperaturbereich von Raumtemperatur bis zum Rückfluss der Lösungsmittel bei Normaldruck.

10

Inerte Lösungsmittel sind beispielsweise Halogenkohlenwasserstoffe wie Methylenchlorid, Trichlormethan, Tetrachlormethan, Trichlorethan, Tetrachlorethan, 1,2-Dichlorethan oder Trichlorethylen, Ether wie Diethylether, Methyl-tert.-butylether, 1,2-Dimethoxyethan, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glykoldimethylether oder Diethylen-glykoldimethylether, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Xylol, Toluol, Hexan, Cyclohexan oder Erdölfraktionen, oder andere Lösungsmittel wie Ethylacetat, Aceton, Dimethylformamid, Dimethylacetamid, 2-Butanon, Dimethylsulfoxid, Acetonitril oder Pyridin, bevorzugt sind Tetrahydrofuran oder Methylenchlorid.

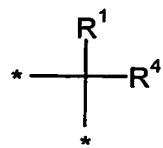
15

Basen sind beispielsweise Alkalicarbonate wie Cäsiumcarbonat, Natrium- oder Kaliumcarbonat, oder Kalium-tert.-butylat, oder andere Basen wie Natriumhydrid, DBU, Triethylamin oder Diisopropylethylamin, bevorzugt sind Diisopropylethylamin und Triethylamin.

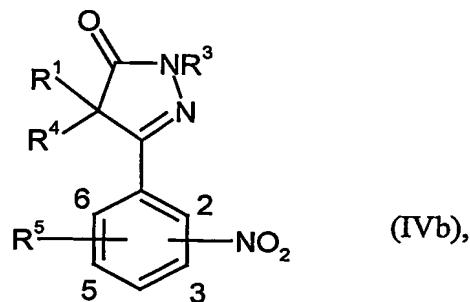
20

25 Die Verbindungen der Formel (IIIb) sind bekannt oder lassen sich nach bekannten Verfahren aus den entsprechenden Edukten synthetisieren.

Die Verbindungen der Formel (IIab), welche Verbindungen der Formel (IIIb) darstellen, worin X für



steht, können hergestellt werden, indem Verbindungen der Formel (IVb)



5

in welcher

$\text{NO}_2$  über eine der Positionen 2, 3, 5 oder 6 an den Aromaten gebunden ist, und

10  $\text{R}^1, \text{R}^3, \text{R}^4$  und  $\text{R}^5$  die oben angegebene Bedeutung haben,

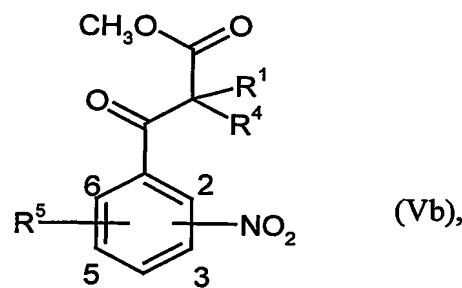
reduziert werden, z.B. mit Zinn(II)-chlorid oder Wasserstoff mit Palladium auf Kohle.

15 Die Umsetzung erfolgt in inerten Lösungsmitteln, bevorzugt in einem Temperaturbereich von Raumtemperatur bis zum Rückfluss der Lösungsmittel bei Normaldruck bis 3 bar.

20 Inerte Lösungsmittel sind beispielsweise Ether wie Diethylether, Methyl-tert.-butylether, 1,2-Dimethoxyethan, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glycoldimethylether oder Diethylenglycoldimethylether, Alkohole wie Methanol, Ethanol, n-Propanol, iso-Propanol, n-Butanol oder tert.-Butanol, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Xylool, Toluol, Hexan, Cyclohexan oder Erdölfraktionen, oder andere Lösungsmittel wie Di-

methylformamid, Dimethylacetamid, Acetonitril oder Pyridin, bevorzugt sind Ethanol, iso-Propanol oder im Falle von Zinndichlorid in Dimethylformamid.

Die Verbindungen der Formel (IVb) können hergestellt werden, indem Verbindungen  
5 der Formel (Vb)



in welcher

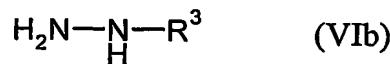
10

$\text{NO}_2$  über eine der Positionen 2, 3, 5 oder 6 an den Aromaten gebunden ist, und

$\text{R}^1$ ,  $\text{R}^4$  und  $\text{R}^5$  die oben angegebene Bedeutung haben,

15

mit Hydrazin oder einer Verbindung der allgemeinen Formel (VIb),



in welcher

20

$\text{R}^3$  die oben angegebene Bedeutung aufweist, umgesetzt werden.

Die Umsetzung erfolgt in inerten Lösungsmitteln, bevorzugt in einem Temperaturbereich von Raumtemperatur bis zum Rückfluss der Lösungsmittel bei Normaldruck.

5

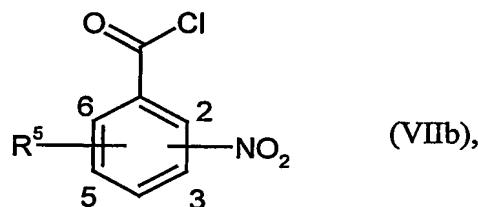
Inerte Lösungsmittel sind beispielsweise Ether wie Diethylether, Methyl-tert.-butylether, 1,2-Dimethoxyethan, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glykoldimethylether oder Diethylenglykoldimethylether, Alkohole wie Methanol, Ethanol, n-Propanol, iso-Propanol, n-Butanol oder tert.-Butanol, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Xylool, Toluol, Hexan, Cyclohexan oder Erdölfraktionen, oder andere Lösungsmittel wie Dimethylformamid, Dimethylacetamid, Acetonitril oder Pyridin, bevorzugt sind Ethanol oder iso-Propanol.

10

Die Verbindungen der Formel (VIb) sind bekannt oder lassen sich nach bekannten Verfahren aus den entsprechenden Edukten synthetisieren.

15

Die Verbindungen der Formel (Vb) können hergestellt werden, indem Verbindungen der Formel (VIIb)



in welcher

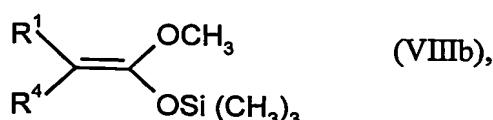
20

$\text{NO}_2$  über eine der Positionen 2, 3, 5 oder 6 an den Aromaten gebunden ist, und

$\text{R}^5$  die oben angegebene Bedeutung hat,

mit Verbindungen der Formel (VIIIb)

25



worin R<sup>1</sup> und R<sup>4</sup> die oben angegebene Bedeutung haben,

in Gegenwart von Bortrifluoretherat umgesetzt werden.

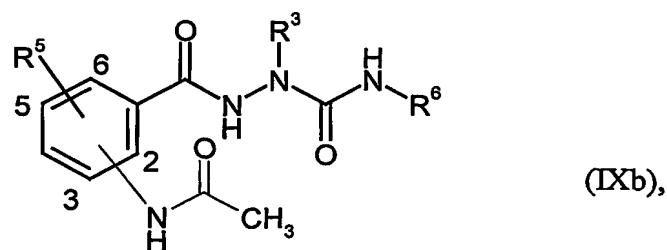
- 5 Die Umsetzung erfolgt in inerten Lösungsmitteln, bevorzugt in einem Temperaturbereich von Raumtemperatur bis zum Rückfluss der Lösungsmittel bei Normaldruck.

10 Inerte Lösungsmittel sind beispielsweise Ether wie Diethylether, Methyl-tert.-butylether, 1,2-Dimethoxyethan, Dioxan, Tetrahydrofuran, Glykoldimethylether oder Diethylenglykoldimethylether, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Xylol, Toluol, Hexan, Cyclohexan oder Erdölfraktionen, oder andere Lösungsmittel wie Dimethylacetamid, Acetonitril oder Pyridin, bevorzugt ist Diethylether.

- 15 Die Verbindungen der Formel (VIIb) sind bekannt oder können analog bekannten Verfahren hergestellt werden.

Die Verbindungen der Formel (VIIIb) sind bekannt oder können analog C. Ainsworth, F. Chen, Y.-N. Kuo, *J. Organomet. Chem.* 1972, 46, 59-71 hergestellt werden.

- 20 Die Verbindungen der Formel (IIbb), welche für Verbindungen der Formel (IIb) stehen, worin X für NR<sup>6</sup> steht, können hergestellt werden, indem Verbindungen der Formel (IXb)



25

in welcher

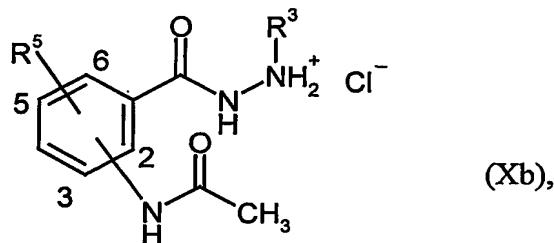
NHC(O)CH<sub>3</sub> über eine der Positionen 2, 3, 5 oder 6 an den Aromaten gebunden ist, und

- 5 R<sup>3</sup>, R<sup>5</sup> und R<sup>6</sup> die oben angegebene Bedeutung haben,

in Wasser in Gegenwart einer Base, bevorzugt bei 60°C bis zum Rückfluss des Wassers bei Normaldruck umgesetzt werden.

- 10 Basen sind beispielsweise Alkalihydroxide wie Natrium-, Lithium- oder Kaliumhydroxid, Alkalicarbonate wie Cäsiumcarbonat, Natrium- oder Kaliumcarbonat, bevorzugt ist Natriumhydroxid.

- 15 Die Verbindungen der Formel (IXb) können hergestellt werden, indem Verbindungen der Formel (Xb)



in welcher

20

NHC(O)CH<sub>3</sub> über eine der Positionen 2, 3, 5 oder 6 an den Aromaten gebunden ist, und

R<sup>3</sup> und R<sup>5</sup> die oben angegebene Bedeutung haben,

25

mit Verbindungen der Formel (XIb)



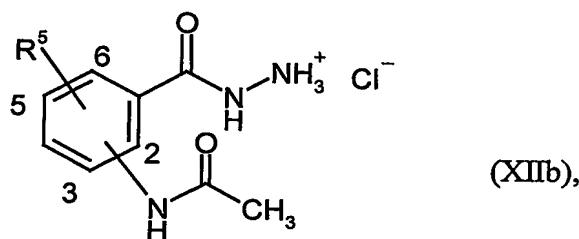
in welcher  $\text{R}^6$  die oben angegebene Bedeutung hat,

- 5 nach dem für die Herstellung der Verbindungen der Formel (Ib) beschriebenen Verfahren umgesetzt.

Die Verbindungen der Formel (XIb) sind bekannt oder können analog bekannten Verfahren hergestellt werden.

10

Die Verbindungen der Formel (Xb) können hergestellt werden, indem Verbindungen der Formel (XIIb)



15

in welcher

NHC(O)CH<sub>3</sub> über eine der Positionen 2, 3, 5 oder 6 an den Aromaten gebunden ist, und

20

$\text{R}^5$  die oben angegebene Bedeutung hat,

mit Verbindungen der Formel (XIIIb)



in welcher R<sup>3</sup> die oben angegebene Bedeutung hat,

in einer reduktiven Aminierung nach dem Fachmann für reduktive Aminierungen bekannten Verfahren umgesetzt werden.

5

Die Verbindungen der Formeln (XIIb) und (XIIIb) sind bekannt oder können analog bekannten Verfahren hergestellt werden.

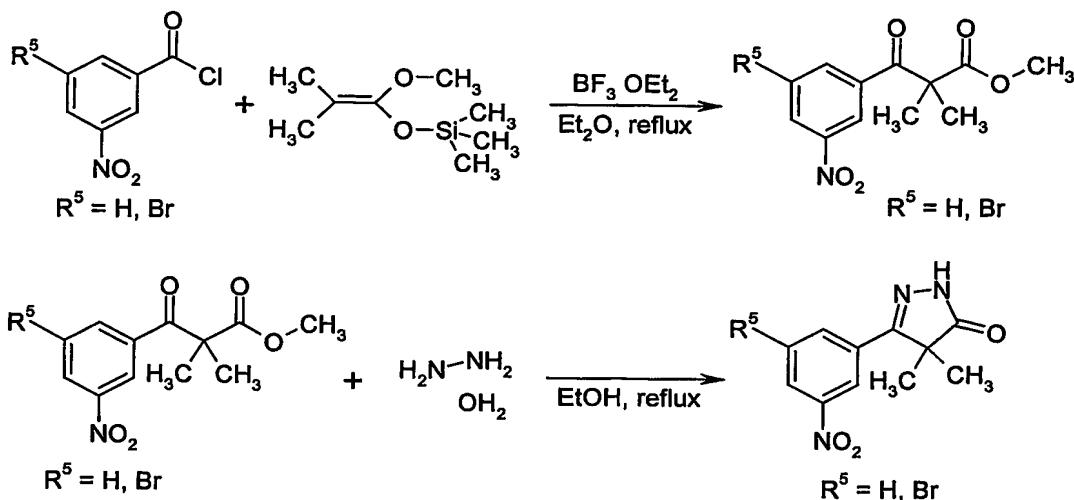
Die Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen kann durch die folgenden Syntheseschemata 5-12 verdeutlicht werden.

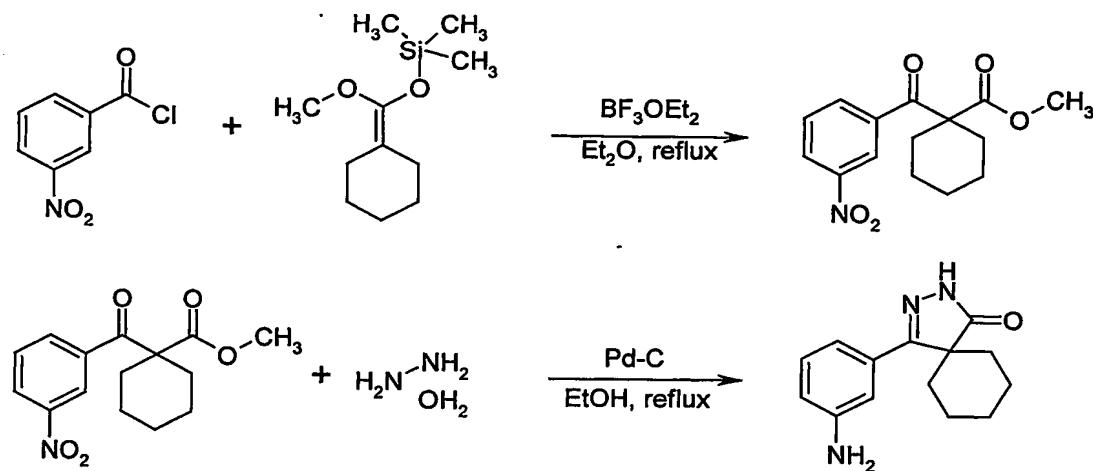
10

#### Syntheseschemata:

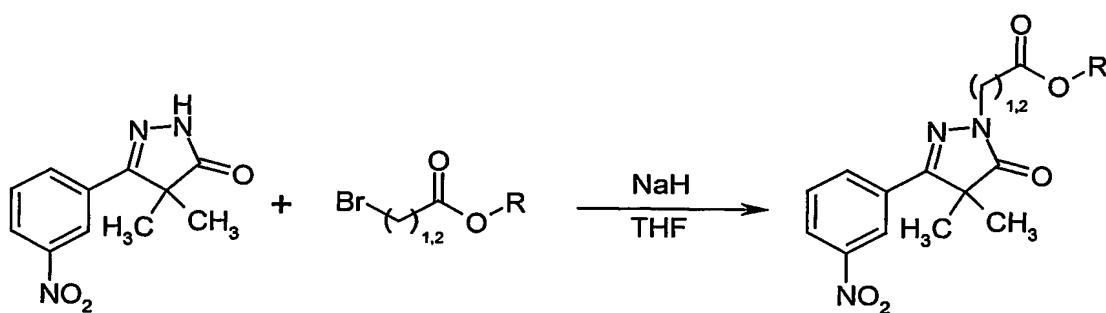
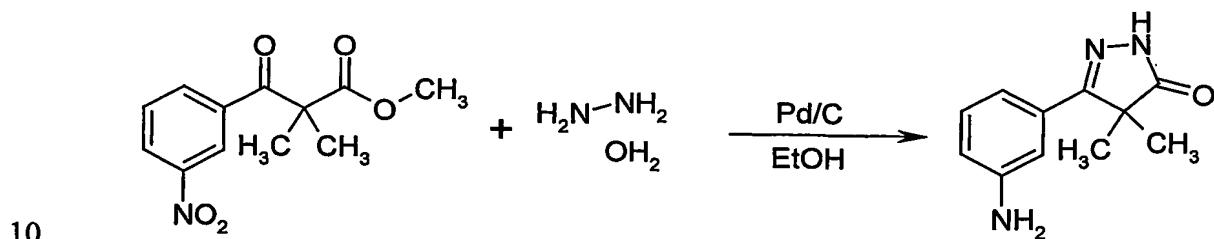
Schema 5:

15

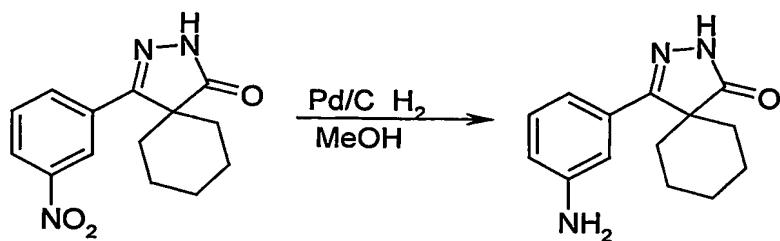
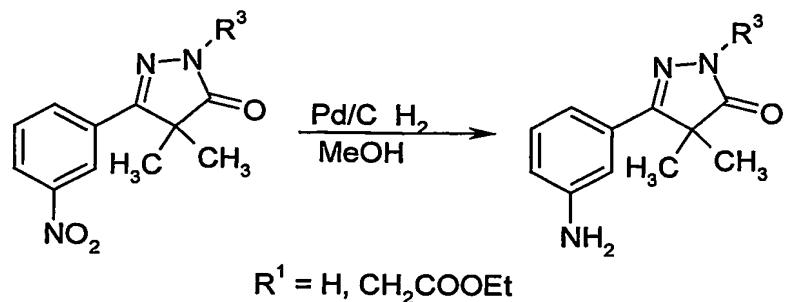


Schema 6:

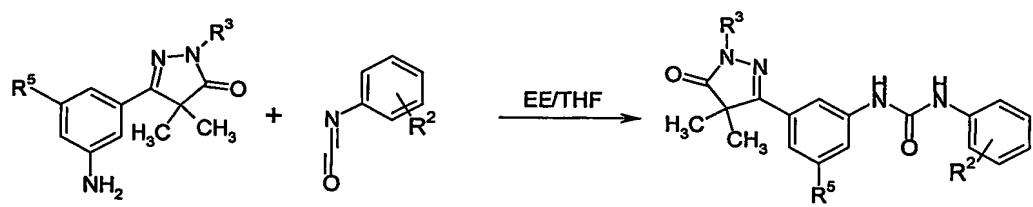
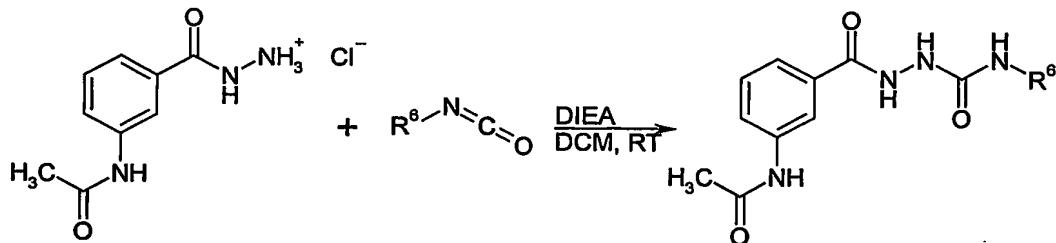
5

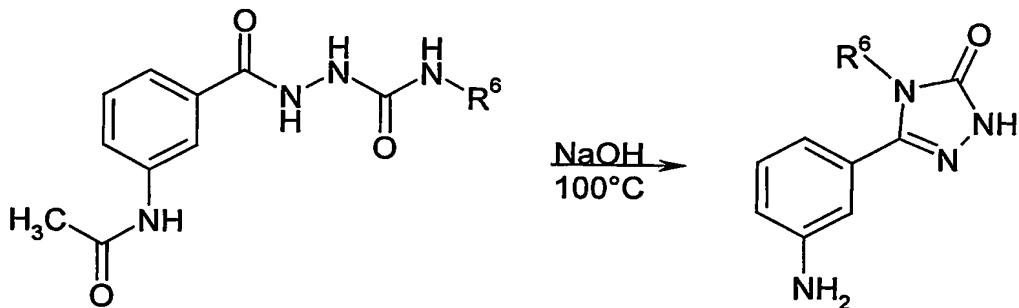
Schema 7: Alkylierungen der PyrazoloneSchema 8: Reaktionen zum Anilin

10

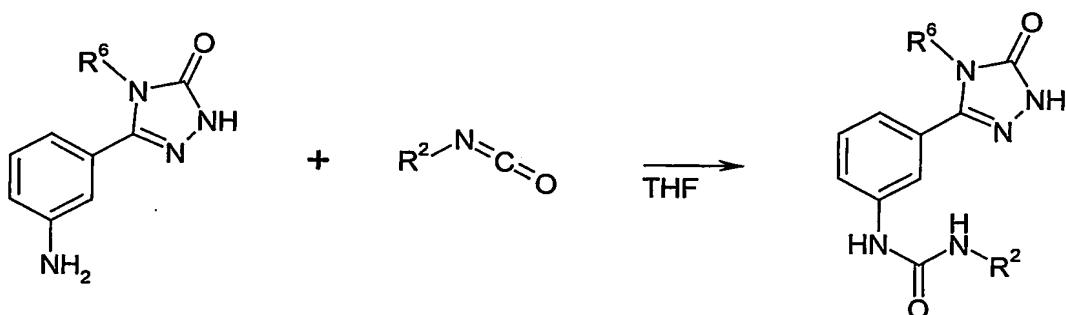
**Schema 9: Harnstoffsynthesen**

5

**Schema 10: Synthese der Hydrazincarboxamide**

Schema 11: Synthese der 3-Aminotriazolone

5

Schema 12: Harnstoffsynthesen

10

Die erfindungsgemäßen Verbindungen zeigen ein nicht vorher-sehbare, wertvolles pharmakologisches und pharmakokinetisches Wirkspektrum.

Sie eignen sich daher zur Verwendung als Arzneimittel zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Krankheiten bei Menschen und Tieren.

15

Sie zeichnen sich als UL86-Inhibitoren aus.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können aufgrund ihrer pharmakologischen Eigenschaften allein oder in Kombination mit anderen Wirkstoffen zur Behandlung

und/oder Prävention von Herpesinfektionen, insbesondere von Infektionen mit dem humanen Cytomegalievirus (HCMV) eingesetzt werden.

Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Arzneimittel, die mindestens eine erfindungsgemäße Verbindung, vorzugsweise zusammen mit einem oder mehreren pharmakologisch unbedenklichen Hilfs- oder Trägerstoffen enthalten, sowie deren Verwendung zu den zuvor genannten Zwecken.

Der Wirkstoff kann systemisch und/oder lokal wirken. Zu diesem Zweck kann er auf geeignete Weise appliziert werden, wie z.B. oral, parenteral, pulmonal, nasal, sublingual, lingual, buccal, rectal, transdermal, conjunctival, otisch oder als Implantat.

Für diese Applikationswege kann der Wirkstoff in geeigneten Applikationsformen verabreicht werden.

Für die orale Applikation eignen sich bekannte, den Wirkstoff schnell und/oder modifiziert abgebende Applikationsformen, wie z.B. Tabletten (nicht überzogene sowie überzogene Tabletten, z.B. mit magensaftresistenten Überzügen versehene Tabletten oder Filmtabletten), Kapseln, Dragees, Granulate, Pellets, Pulver, Emulsionen, Suspensionen, Lösungen und Aerosole.

Die parenterale Applikation kann unter Umgehung eines Resorptionsschrittes geschehen (intravenös, intraarteriell, intrakardial, intraspinal oder intralumbal) oder unter Einschaltung einer Resorption (intramuskulär, subcutan, intracutan, percutan, oder intraperitoneal). Für die parenterale Applikation eignen sich als Applikationsformen u.a. Injektions- und Infusionszubereitungen in Form von Lösungen, Suspensionen, Emulsionen, Lyophilisaten und sterilen Pulvern.

Für die sonstigen Applikationswege eignen sich z.B. Inhalationsarzneiformen (u.a. Pulverinhaltatoren, Nebulizer), Nasentropfen / -lösungen, Sprays; lingual, sublingual oder buccal zu applzierende Tabletten oder Kapseln, Suppositorien, Ohren- und

Augen-präparationen, Vaginalkapseln, wässrige Suspensionen (Lotionen, Schüttelmixturen), lipophile Suspensionen, Salben, Cremes, Milch, Pasten, Streupuder oder Implantate.

- 5 Die Wirkstoffe können in an sich bekannter Weise in die angeführten Applikationsformen überführt werden. Dies geschieht unter Verwendung inerter nichttoxischer, pharmazeutisch geeigneter Hilfsstoffe. Hierzu zählen u.a. Trägerstoffe (z.B. mikrokristalline Cellulose), Lösungsmittel (z.B. flüssige Polyethylenglycole), Emulgatoren (z.B. Natriumdodecylsulfat), Dispergiermittel (z.B. Polyvinylpyrrolidon), synthetische und natürliche Biopolymere (z.B. Albumin), Stabilisatoren (z.B. Antioxidantien wie Ascorbinsäure), Farbstoffe (z.B. anorganische Pigmente wie Eisenoxide) oder Geschmacks- und / oder Geruchskorrigentien.

- 10 Im Allgemeinen hat es sich als vorteilhaft erwiesen, bei parenteraler Applikation Mengen von etwa 0.001 bis 10 mg/kg, vorzugsweise etwa 0.01 bis 5 mg/kg Körpergewicht zur Erzielung wirksamer Ergebnisse zu verabreichen. Bei oraler Applikation beträgt die Menge etwa 0.01 bis 25 mg/kg, vorzugsweise etwa 0.1 bis 10 mg/kg Körpergewicht.

- 15 20 Trotzdem kann es gegebenenfalls erforderlich sein, von den genannten Mengen abzuweichen, und zwar in Abhängigkeit von Körpergewicht, Applikationsweg, individuellem Verhalten gegenüber dem Wirkstoff, Art der Zubereitung und Zeitpunkt bzw. Intervall, zu welchem die Applikation erfolgt. So kann es in einigen Fällen ausreichend sein, mit weniger als der vorgenannten Mindestmenge auszukommen, während in anderen Fällen die genannte obere Grenze überschritten werden muss. Im Falle der Applikation größerer Mengen kann es empfehlenswert sein, diese in mehreren Einzelgaben über den Tag zu verteilen.

- 25 30 Die Prozentangaben in den folgenden Tests und Beispielen sind, sofern nicht anders angegeben, Gewichtsprozente; Teile sind Gewichtsteile. Lösungsmittelverhältnisse,

Verdünnungsverhältnisse und Konzentrationsangaben von flüssig/flüssig-Lösungen beziehen sich jeweils auf das Volumen.

A. Beispiele

5

Boc	Butoxycarbonyl
DC	Dünnschichtchromatographie
DCI	direkte chemische Ionisation (bei MS)
DCM	Dichlormethan
DIEA	<i>N,N</i> -Diisopropylethylamin
DMSO	Dimethylsulfoxid
DMF	Dimethylformamid
d. Th.	der Theorie
EE	Ethylacetat (Essigsäureethylester)
ESI	Elektrospray-Ionisation (bei MS)
Fp.	Schmelzpunkt
h	Stunde
HPLC	Hochdruck-, Hochleistungsflüssigchromatographie
LC-MS	Flüssigchromatographie-gekoppelte Massenspektroskopie
MS	Massenspektroskopie
moi	Multiplicity of infection
NMR	Kernresonanzspektroskopie
RP-HPLC	Reverse Phase HPLC
RT	Raumtemperatur
R <sub>f</sub>	Retentionsindex (bei DC)
R <sub>t</sub>	Retentionszeit (bei HPLC)
SI	Selektivitätsindex
THF	Tetrahydrofuran

**HPLC- und LCMS-Methoden:**

**Methode 1 (LCMS):** Instrument: Micromass Quattro LCZ, HP1100; Säule: Symmetry C18, 50 mm x 2.1 mm, 3.5 µm; Eluent A: Acetonitril + 0.1% Ameisensäure, Eluent B: Wasser + 0.1% Ameisensäure; Gradient: 0.0min 10%A → 4.0min 90%A → 6.0min 90%A; Ofen: 40°C; Fluss: 0.5ml/min; UV-Detektion: 208-400 nm.

**Methode 2 (HPLC):** Instrument: Finnigan MAT 900S, TSP: P4000, AS3000, UV3000HR; Säule: Symmetry C 18, 150 mm x 2.1 mm, 5.0 µm; Eluent C: Wasser, Eluent B: Wasser + 0.3g 35%ige Salzsäure, Eluent A: Acetonitril; Gradient: 0.0min 2%A → 2.5min 95%A → 5min 95%A; Ofen: 70 °C; Fluss: 1.2ml/min; UV-Detektion: 210 nm.

**Methode 3:** Säule: Kromasil C18 60\*2, L-R Temperatur: 30°C, Fluß =  $0.75 \text{ ml min}^{-1}$ , Eluent: A = 0.005 M HClO<sub>4</sub>, B = Acetonitril, Gradient: → 0.5 min 98 %A → 4.5 min 10 %A → 6.5 min 10 %A

**Ausgangsverbindungen**

**Allgemeine Arbeitsvorschrift [A]:**

**Synthese von TMS-Cyanhydrinen**

Unter einer Argonatmosphäre werden in einem ausgeheizten 100 ml Dreihalskolben 55 mmol Trimethylsilylcyanid mit einer Spatelspitze wasserfreiem Zinkiodid versetzt. Bei RT werden 50 mmol der flüssigen Aldehyde langsam (exotherme Reaktion) zugetropft (feste Aldehyde werden bei 60°C als Feststoff portionsweise zugegeben). Die erhaltene braune Reaktionsmischung wird für 7-8 Stunden auf 95°C erwärmt. Danach wird das Produkt im Hochvakuum mit Hilfe eines Kugelrohrfens

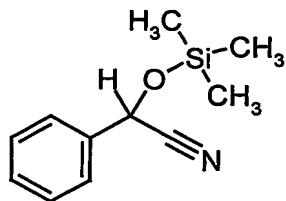
destilliert. Die dabei erhaltenen farblosen oder leicht gelben Flüssigkeiten werden ohne weitere Reinigung für die nächsten Umsetzungen verwendet.

Nach dieser Vorschrift wird folgende Verbindung hergestellt :

5

### Beispiel 1A

Phenyl[(trimethylsilyl)oxy]acetonitril



- 10 Ausgehend von 5.63 g (55 mmol) Trimethylsilylcyanid werden mit 5.31 g (50 mmol) Benzaldehyd 8.80 g (86% d. Th.) Produkt erhalten.  
HPLC (Methode 3):  $R_t = 3.38 \text{ min}$   
MS (DCI):  $m/z = 223 (\text{M}+\text{NH}_4)^+$

- 15 Allgemeine Arbeitsvorschrift [B]:

### Umsetzung von TMS-Cyanhydrinen mit 3-Methyl-2-butensäuremethylester

- 20 1 eq. des entsprechenden TMS-Cyanhydrins wird in einem ausgeheizten 250 ml Dreihalskolben unter Argon in absolutem Diethylether gelöst und die erhaltene Lösung auf  $-78^\circ\text{C}$  abgekühlt. Dazu werden 1.05 eq. 2 M LDA-Lösung in THF/Heptan/Ethylbenzol innerhalb von 30 min zugetropft. Man lässt noch 30 min bei dieser Temperatur röhren bevor 1 eq. 3-Methyl-2-butensäuremethylester, gelöst in wenig absolutem Diethylether, zugetropft wird. Innerhalb von 5 Stunden lässt man auf  $0^\circ\text{C}$  bis  $10^\circ\text{C}$  erwärmen. Daraufhin wird gesättigte Ammoniumchloridlösung zugegeben und 10 min gerührt. Die Phasen werden getrennt und die etherische Phase noch 2x mit gesättigter Ammoniumchloridlösung gewaschen. Nach Trocknung über Magnesiumsulfat und Filtration wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer ent-

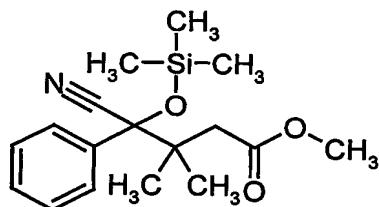
fernt und man erhält das Produkt, das ohne weitere Reinigung für den nächsten Syntheseschritt eingesetzt wird.

Nach dieser Vorschrift wird folgende Verbindung hergestellt :

5

### Beispiel 2A

4-Cyano-3,3-dimethyl-4-phenyl-4-[(trimethylsilyl)oxy]butansäuremethylester



- 10 Ausgehend von 8.80 g (43 mmol) Phenyl[(trimethylsilyl)oxy]acetonitril werden, nach Deprotonierung mit 22.5 ml 2 M LDA-Lösung, mit 5.04 g (43 mmol) 3-Methyl-2-buten-säuremethylester 13.69 g (67% d. Th.) der Titelverbindung als Rohprodukt erhalten.

HPLC (Methode 3):  $R_t = 5.53 \text{ min}$

- 15 MS (DCI):  $m/z = 337 (\text{M}+\text{NH}_4)^+$

### Allgemeine Arbeitsvorschrift [C]:

#### Desilylierung mit Hilfe von TBAF

20

- 1 eq. der Butansäuremethylesterderivate wird unter einer Argonatmosphäre in absolutem THF (0.25 M) gelöst und auf 0°C abgekühlt. Bei dieser Temperatur werden 1.1 eq. einer 1 M TBAF-Lösung in THF langsam zugetropft. Man lässt noch 3 Stunden röhren, gibt dann Wasser zu und extrahiert 3x mit Dichlormethan. Nach Trocknung über Magnesiumsulfat, Filtration und Entfernung des Lösungsmittels

25

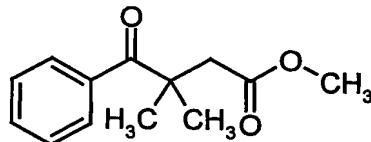
wird säulenchromatographisch (Kieselgel: Laufmittel Cyclohexan/Ethylacetat = 85:15) oder mittels Kugelrohrdestillation gereinigt.

Nach dieser Vorschrift wird folgende Verbindung hergestellt :

5

**Beispiel 3A**

3,3-Dimethyl-4-oxo-4-phenylbutansäuremethylester



10

Ausgehend von 13.44 g (42 mmol) 4-Cyano-3,3-dimethyl-4-phenyl-4-[(trimethylsilyl)oxy]butansäuremethylester werden mit 46.3 ml (46.3 mmol) einer 1 M TBAF-Lösung 6.54 g (62 % d. Th.) der Titelverbindung als Rohprodukt erhalten.

HPLC (Methode 3):  $R_t = 4.25 \text{ min}$

15

MS (DCI):  $m/z = 238 (\text{M}+\text{NH}_4)^+$

Alternative Synthesemethode:

20

48.4 ml (24.20 mmol; 0.5 M Lösung in Toluol) Kaliumhexamethyldisilazid werden in 30 ml Tetrahydrofuran gelöst und bei  $-78^\circ\text{C}$  mit 3.26 g (22 mmol) Isobutyrophenon in 10 ml Tetrahydrofuran versetzt. Nach 2 Stunden werden 4.04 g (26.40 mmol) Bromessigsäuremethylester dazugegeben. Nach weiteren 2 Stunden wird mit 50 ml 1N Salzsäure versetzt. Anschließend wird mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Nach préparativer Normal-Phasen-HPLC (Säule: Kieselgel, Fluß: 150ml/min, Eluent: iso-Hexan/Essigsäureethylester = 9:1) erhält man die Zielverbindung in einer Ausbeute von 26 %.

25

HPLC (Methode 3)  $R_t = 4.60 \text{ min}$

MS (DCI/NH<sub>3</sub>):  $m/z = 238 (\text{M}+\text{NH}_4)^+$

Allgemeine Arbeitsvorschrift [D]:

Esterverseifung

5

Der zu verseifende Ester wird in einem THF/Methanol-Gemisch (1:1) gelöst und die Lösung auf 0°C abgekühlt. Bei dieser Temperatur werden 2 eq. 1 N Natronlauge langsam zugetropft. Nach beendeter Reaktion (Reaktionskontrolle mittels DC) werden jeweils gleiche Anteile einer 1N Natronlauge und Dichlormethan zugegeben. Die organische Phase wird zweimal mit 1 N Natronlauge extrahiert. Anschliessend werden die vereinigten wässrigen Phasen mit konzentrierter Salzsäure angesäuert und das Produkt dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Nach Trocknung über Natriumsulfat, Filtration und Verdampfen des Lösungsmittels wird das Produkt erhalten und ohne weitere Aufreinigung für den nächsten Syntheseschritt verwendet.

10

Nach dieser Vorschrift wird folgende Verbindung hergestellt :

Beispiel 4A

5-Hydroxy-4,4-dimethyl-5-phenyldihydro-2(3H)-furanon

20



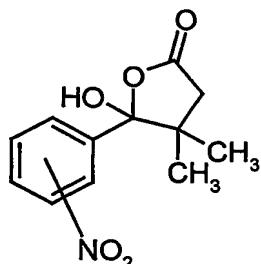
Ausgehend von 6.52 g (29.6 mmol) 3,3-Dimethyl-4-oxo-4-phenylbutansäuremethyl-ester werden 5.20 g (83% d. Th.) Produkt erhalten.

25 HPLC (Methode 3):  $R_t = 3.88 \text{ min}$

MS (DCI):  $m/z = 224 (\text{M}+\text{NH}_4)^+$

**Beispiel 5A**

5-Hydroxy-4,4-dimethyl-5-(3-nitrophenyl)dihydro-2(3*H*)-furanon und 5-Hydroxy-4,4-dimethyl-5-(4-nitrophenyl)dihydro-2(3*H*)-furanon



5

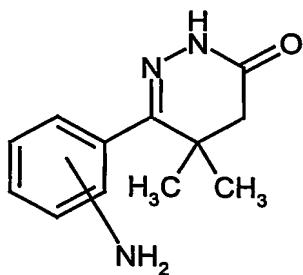
Rauchende Salpetersäure (12 ml) wird in einem Kolben unter Argon auf -15°C abgekühlt. Bei dieser Temperatur werden 5 g (24.5 mmol) 5-Hydroxy-4,4-dimethyl-5-phenyldihydro-2(3*H*)-furanon als Feststoff portionsweise zugegeben. Es wird noch eine halbe Stunde bei -15°C nachgerührt, dann auf Eis gegossen und dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten Extrakte werden über Magnesiumsulfat getrocknet. Reinigung erfolgt mittels Säulenchromatographie (Dichlormethan-Methanol 97:3). Es werden 6.23 g eines Produktgemisches der Titelverbindungen als Rohprodukt erhalten.

15 HPLC (Methode 3):  $R_t = 4.06 \text{ min}$

MS (DCI):  $m/z = 269 (\text{M}+\text{NH}_4)^+$

**Beispiel 6A**

20 6-(3-Aminophenyl)-5,5-dimethyl-4,5-dihydro-3(2*H*)-pyridazinon und 6-(4-Amino-phenyl)-5,5-dimethyl-4,5-dihydro-3(2*H*)-pyridazinon



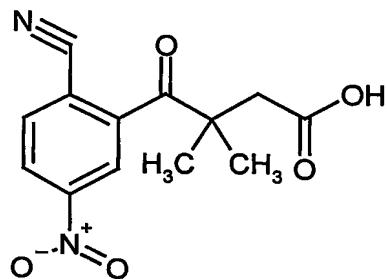
2.98 g (11.9 mmol) eines Gemisches aus 5-Hydroxy-4,4-dimethyl-5-(3-nitrophenyl)dihydro-2(3H)-furanon und 5-Hydroxy-4,4-dimethyl-5-(4-nitrophenyl)dihydro-2-(3H)-furanon werden in 40 ml Ethanol bei RT gelöst und mit 8.91 g (178 mmol) Hydrazinmonohydrat versetzt. Daraufhin werden 300 mg Palladium/Kohle (10 Gew.-%) zugegeben und die Reaktionsmischung 20 Stunden zum Rückfluss erhitzt. Anschliessend wird heiss über Celite filtriert, mit heissem Ethanol nachgewaschen und zur Trockene eingeengt. Aus Ethanol wird kristallisiert. Man erhält 1.09 g (34 % d. Th.) eines Produktgemisches mit 80 % meta- und 20 % para-Produkt. Erneute Kristallisation aus der Mutterlauge ergibt 1.03 g (30 % d. Th.) eines Produktgemisches mit 74 % para- und 26 % meta-Produkt. Die beiden Fraktionen werden vereinigt und an einer präparativen HPLC (Methode 12) in das para- und meta-Produkt getrennt.

HPLC (Methode 3):  $R_t = 2.53$  min (para), bzw. 2.83 min (meta)

MS (EI):  $m/z = 217$  ( $M^+$ )

### Beispiel 7A

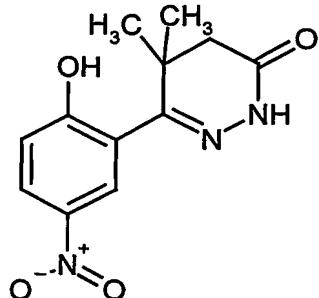
4-(2-Cyano-5-nitrophenyl)-3,3-dimethyl-4-oxobutansäure



Die Herstellung von 4-(2-Cyano-5-nitrophenyl)-3,3-dimethyl-4-oxobutansäure erfolgt aus 4-(2-Fluor-5-nitrophenyl)-3,3-dimethyl-4-oxobutansäure in Anlehnung an die Literatur *Heterocycles* 1987, 26, 1227 und *Synth. Commun.* 1985, 15, 479.

**Beispiel 8A**

6-(2-Hydroxy-5-nitrophenyl)-5,5-dimethyl-4,5-dihydro-3(2H)-pyridazinon



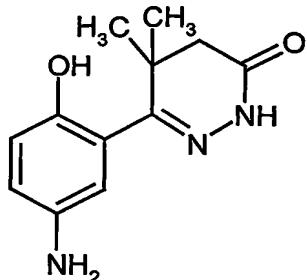
In 400 ml Ethanol werden 26.00 g (94.12 mmol) 4-(2-Cyano-5-nitrophenyl)-3,3-dimethyl-4-oxobutansäure gelöst und unter Rückfluß 47.12 g (941.19 mmol) Hydrazinhydrat zugetropft. Es wird 5 h in der Siedehitze gerührt und anschließend die Lösung bis auf 100 ml eingeengt. Der Rückstand wird mit Wasser versetzt und das Volumen auf 200 ml eingeengt. Anschließend werden die Kristalle abgesaugt und mit Wasser und Diethylether gewaschen. Nach Trocknen im Vakuum werden 20.03 g (81 % d. Th.) Produkt erhalten.

HPLC (Methode 3):  $R_t = 3.50 \text{ min}$

MS (DCI/NH<sub>3</sub>): m/z = 281 ( $M + NH_4$ )<sup>+</sup>.

**Beispiel 9A**

6-(5-Amino-2-hydroxyphenyl)-5,5-dimethyl-4,5-dihydro-3(2H)-pyridazinon



In 150 ml Ethanol werden 3.00 g (11.40 mmol) 6-(2-Hydroxy-5-nitrophenyl)-5,5-dimethyl-4,5-dihydro-3(2H)-pyridazinon gelöst und mit 0.30 g Palladium/Kohle (10 %) versetzt. In der Siedehitze werden 5.70 g (113.96 mmol) Hydrazinhydrat zugetropft. Nach 18 h Röhren unter Rückfluß wird das Lösungsmittel entfernt und

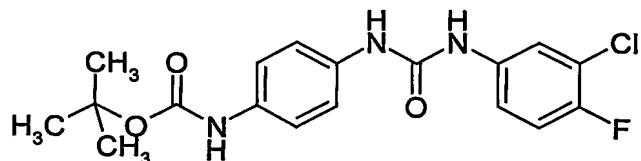
der ölige Rückstand aus Diethylether kristallisiert. Es wird mit Wasser verrührt und die Kristalle abgesaugt. Nach Waschen mit Diethylether wird im Vakuum getrocknet. Es werden 1.84 g (69 % d. Th.) Produkt erhalten.

HPLC (Methode 3):  $R_t = 2.30 \text{ min}$

5 MS (ESI pos):  $m/z = 234 (\text{M}+\text{H})^+$ .

### Beispiel 10A

tert-Butyl 4-({[(3-chlor-4-fluorphenyl)amino]carbonyl}amino)phenylcarbamat



10

Zu einer mit Argon überschichteten, Suspension von 2.70 g (12.96 mmol) 4-(tert-Butoxycarbonyl-amino)anilin in 50ml Dichlormethan werden bei RT 2.34 g (13.61 mmol) 3-Chlor-4-fluorphenylisocyanat zugegeben. Es fällt sofort ein Niederschlag aus. Nachträglich werden noch 20 ml Dichlormethan zugegeben.

15 Nach einer Rührzeit von 30 min (DC1 Cyclohexan/Ethylacetat 1:1) wird der Niederschlag abgesaugt und mit Pentan gewaschen (DC2 Cyclohexan/Ethylacetat 1:1). Das Produkt wird bei 50 °C am Rotationsverdampfer vorgetrocknet, bevor es im Hochvakuum getrocknet wird.

Man erhält 4.5g (90% d. Th.) Produkt.

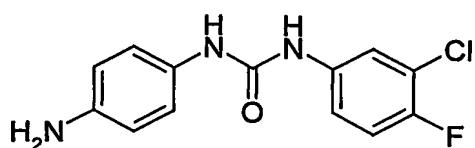
20  $R_f$ -Wert (Cyclohexan/Ethylacetat 1:1): 0.42

HPLC (Methode 1):  $R_t = 4.43 \text{ min}$

### Beispiel 11A

N-(4-Aminophenyl)-N'-(3-chlor-4-fluorphenyl)harnstoff

25



Eine Suspension von 4.53 g (11.93 mmol) Beispiel 10A in 50 ml 4N Chlorwasserstoff/Dioxan wird 2h unter Argon bei RT gerührt (DC1 Dichlormethan/Methanol 100:5). Der entstehende Niederschlag wird abgesaugt, mit Dioxan und Diethylether gewaschen (DC2 Dichlormethan/Methanol/Ammoniak 9:1:0.1). Das Produkt wird bei 50 °C vorgetrocknet, bevor es im Hochvakuum getrocknet wird.  
5 Man erhält 3.5g (quant.) Produkt.

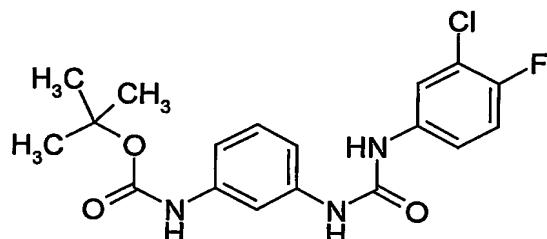
R<sub>f</sub>-Wert (Dichlormethan/Methanol/Ammoniak 9:1:0.1): 0.59

HPLC (Methode 1): R<sub>t</sub> = 2.56min

10

### Beispiel 12A

tert-Butyl 3-({[(3-chlor-4-fluorphenyl)amino]carbonyl}amino)phenylcarbamat



15 Zu einer Lösung von 3.00 g (14.41 mmol) 3-(tert-Butoxycarbonyl-amino)anilin in 50 ml Dichlormethan wird 2.59 g (15.13 mmol) 3-Chlor-4-fluorphenylisocyanat zugegeben. Es fällt nach wenigen Minuten ein Niederschlag aus. Es wird noch 2h bei RT gerührt (DC1 Cyclohexan/Ethylacetat 1:1).

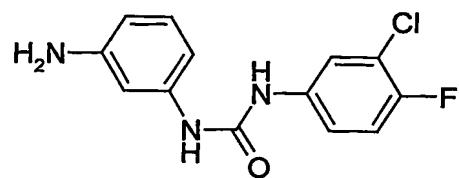
20 Der Niederschlag wird abgesaugt, mit Dichlormethan und Diisopropylether gewaschen (DC2 Cyclohexan/Ethylacetat 1:1) und im Hochvakuum getrocknet.

R<sub>f</sub>-Wert (Cyclohexan/Ethylacetat 1:1): 0.63

HPLC (Methode 2): R<sub>t</sub> = 2.95min

### Beispiel 13A

25 N-(3-Aminophenyl)-N'-(3-chlor-4-fluorphenyl)harnstoff



Eine Suspension von 5.00 g (13.16 mmol) Beispiel 12A in 100ml 4N Chlorwasserstoff/Dioxan wird 17h bei RT gerührt (DC1 Dichlormethan/Methanol 100:5).

5 Der Feststoff wird abgesaugt, mit Dioxan und Diethylether gewaschen (DC2 Dichlormethan/Methanol 100:5) und im Hochvakuum 2 Tage getrocknet.

Man erhält 4.6g (quant.) Produkt.

R<sub>f</sub>-Wert (Dichlormethan/Methanol 100:5): 0.14

HPLC (Methode 1): R<sub>t</sub> = 3.01min

10

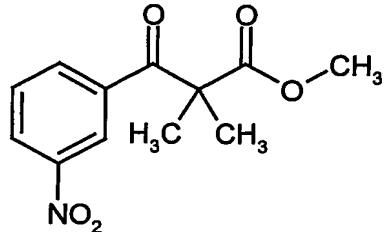
**Allgemeine Arbeitsvorschrift [E]:**

Synthese von β-Ketoestern (analog Vorschrift von M. H. Stefaniak, F. Tinardon, J. D. Wallis, Synlett 1997, 677-678).

15 Unter einer Argonatmosphäre werden in einem ausgeheizten 500 ml Dreihalskolben 1 Äquivalent des entsprechend substituierten 3-Nitrobenzoësäurechlorids in absolutem Diethylether (0.25 M Lösung) gelöst und mit 1 Äquivalent 1-Methoxy-2-methyl-1-trimethylsiloxypropen (C. Ainsworth, F. Chen, Y.-N. Kuo, J. Organomet. Chem. 1972, 46, 59-71) versetzt. Nach Zugabe von einem Äquivalent (gegebenenfalls 3 Äquivalenten) Bortrifluorid-Diethylether-Komplex wird 24 Stunden zum Rückfluss erhitzt. Nach Erkalten der Reaktionsmischung wird jeweils einmal mit 1N Natronlauge, Wasser und gesättigter Kochsalzlösung gewaschen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Filtration und Entfernung des Lösungsmittels erfolgt säulenchromatographische Reinigung des Rohproduktes (Kieselgel: Cyclohexan-Essigsäureethylester 9:1).

**Beispiel 14A**

2,2-Dimethyl-3-(3-nitrophenyl)-3-oxopropansäuremethylester



Ausgehend von 10 g (53.9 mmol) 3-Nitrobenzoësäurechlorid werden mit 9.40 g  
 5 (53.9 mmol) 1-Methoxy-2-methyl-1-trimethylsiloxypropen und 7.65 g (53.9 mmol)  
 Bortrifluorid-Diethylether-Komplex 4.93 g (25 % d. Th) Produkt erhalten.

HPLC (Methode 3):  $R_t = 4.49$  min

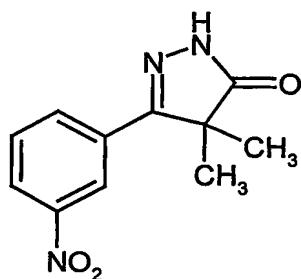
MS (DCI):  $m/z = 269$  ( $M+NH_4$ )<sup>+</sup>

#### 10 Allgemeine Arbeitsvorschrift [F]: Pyrazolonsynthesen

1 Äquivalent des  $\beta$ -Ketoesters wird zusammen mit 5 Äquivalenten Hydrazinhydrat in Ethanol (0.23 M Lösung) für 4 Stunden zum Rückfluss erhitzt. Dabei fällt das Reaktionsprodukt entweder aus der Reaktionsmischung aus oder wird nach Entfernung eines Teils des Lösungsmittels mit Wasser und Cyclohexan ausgefällt. Der Niederschlag wird abgesaugt, mit Diethylether gewaschen und dann im Vakuum getrocknet.  
 15

#### Beispiel 15A

20 4,4-Dimethyl-5-(3-nitrophenyl)-2,4-dihydro-3H-pyrazol-3-on



Ausgehend von 8.53 g (34 mmol) 2,2-Dimethyl-3-(3-nitrophenyl)-3-oxopropansäuremethylester werden mit 8.50 g (170 mmol) Hydrazinhydrat 6.63 g (83 % d. Th.) Produkt erhalten.

5 Fp.: 164.6°C

HPLC (Methode 3):  $R_t = 3.99$  min

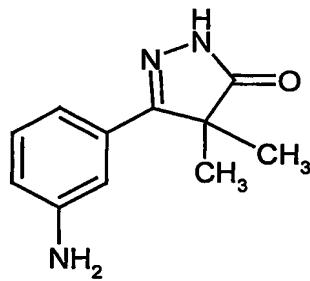
MS (DCI): m/z = 251 ( $M+NH_4$ )<sup>+</sup>

10 Allgemeine Arbeitsvorschrift [G]: Katalytische Hydrierung der Nitrogruppe am Aromaten

20 20 mmol der zu hydrierenden Substanz werden in 100 ml entgastem Methanol gelöst und dann unter Argon mit 250 mg Palladium auf Aktivkohle versetzt. Unter einer Wasserstoffatmosphäre (Normaldruck) wird so lange hydriert bis DC-Kontrolle vollständigen Umsatz anzeigt. Danach wird über Kieselgur abgesaugt, das Filtrat eingengegt, der Rückstand im Vakuum getrocknet und ohne weitere Reinigung weiterverarbeitet.

15 Beispiel 16A

20 4,4-Dimethyl-5-(3-aminophenyl)-2,4-dihydro-3*H*-pyrazol-3-on



25 Ausgehend von 4.60 g (19.2 mmol) 4,4-Dimethyl-5-(3-nitrophenyl)-2,4-dihydro-3*H*-pyrazol-3-on werden 3.66 g (91 % d. Th.) Produkt erhalten.

HPLC (Methode 3):  $R_t = 3.04$  min

MS (ESIpos): m/z = 204 ( $M+H$ )<sup>+</sup>

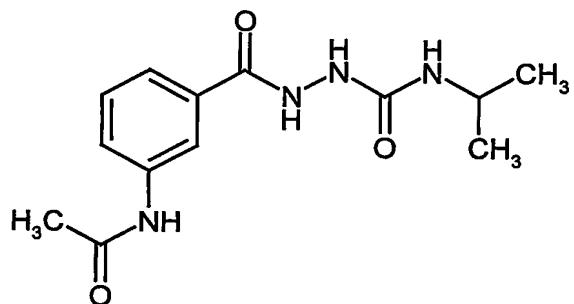
**Allgemeine Arbeitsvorschrift [H]: Synthese der Hydrazincarboxamide**

- 5 1 Äquivalent von 2-[3-(Acetylamino)benzoyl]hydraziniumchlorid wird in Dichlormethan vorgelegt (0.15 M Lösung) und zusammen mit 2 Äquivalenten Diisopropylethylamin und 1 Äquivalent des entsprechenden Isocyanates 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Der entstandene Niederschlag wird abgesaugt, mit Diethylether gewaschen und im Vakuum getrocknet. Das Rohprodukt wird daraufhin direkt weiter umgesetzt.

10

**Beispiel 17A**

2-[3-(Acetylamino)benzoyl]-N-isopropylhydrazincarboxamid



15

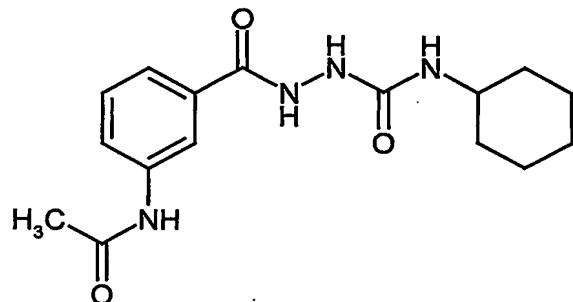
- 7.00 g (30.48 mmol) 2-[3-(Acetylamino)benzoyl]hydraziniumchlorid werden mit 7.88 g (60.96 mmol) Diisopropylethylamin und 2.59 g (30.48 mmol) Isopropylisocyanat umgesetzt. Das Rohprodukt wird daraufhin direkt weiter umgesetzt.

HPLC (Methode 3): R<sub>t</sub> = 2.95 min

20

**Beispiel 18A**

2-[3-(Acetylamino)benzoyl]-N-cyclohexylhydrazincarboxamid



7.00 g (30.48 mmol) 2-[3-(Acetylamino)benzoyl]hydraziniumchlorid werden mit 7.88 g (60.96 mmol) Diisopropylethylamin und 3.82 g (30.48 mmol) Cyclohexylisocyanat umgesetzt. Das Rohprodukt wird daraufhin direkt weiter umgesetzt.

HPLC (Methode 3):  $R_t = 3.46 \text{ min}$

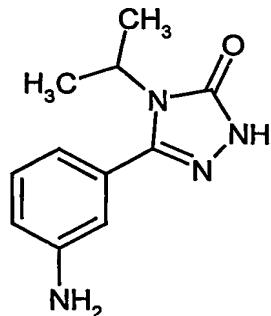
#### Allgemeine Arbeitvorschrift [I]: Synthese der 3-Aminotriazolone

10 1 Äquivalent des entsprechenden Hydrazincarboxamids wird in 1 N Natronlauge gelöst (0.16 M Lösung) und mit 6.15 Äquivalenten Natriumhydroxid versetzt. Man lässt 48 Stunden bei 100°C röhren. Die Reaktionslösung wird mit Salzsäure auf pH 7 eingestellt, der entstandene Niederschlag wird abgesaugt, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet.

15

#### Beispiel 19A

5-(3-Aminophenyl)-4-isopropyl-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on



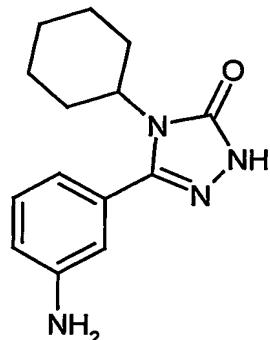
Ausgehend von 6.06 g (32.55 mmol) 2-[3-(Acetylamino)benzoyl]-N-isopropyl-hydrazincarboxamid (roh) und 8.00 g (200.02 mmol) Natriumhydroxid in 200 ml 1 N Natronlauge werden 2.81 g (40 % d. Th.) Produkt erhalten.

HPLC (Methode 3):  $R_t = 2.76 \text{ min}$

5

**Beispiel 20A**

5-(3-Aminophenyl)-4-cyclohexyl-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on



Ausgehend von 7.43 g (32.55 mmol) 2-[3-(Acetylamino)benzoyl]-N-cyclohexyl-hydrazincarboxamid (roh) und 8.00 g (200.02 mmol) Natriumhydroxid in 200 ml 1 N Natronlauge werden 5.59 g (66 % d. Th.) Produkt erhalten.

HPLC (Methode 3):  $R_t = 3.31 \text{ min}$

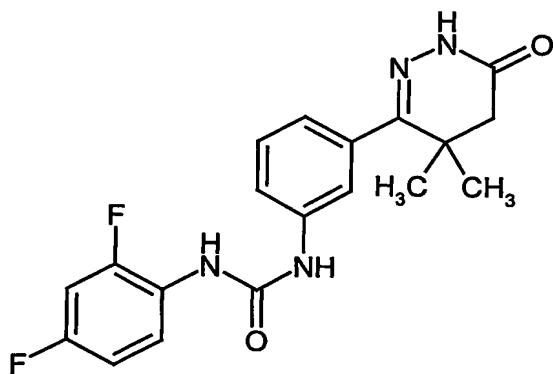
10  
15

**Beschreibung der Abbildung**

**Fig. 1:** Fig. 1 zeigt die Aminosäuresequenz des Wildtyp HCMV UL86 Proteins (Acc.-No. P16729, SEQ ID NO: 1)

AusführungsbeispieleBeispiel 1

5 N-(2,4-Difluorphenyl)-N'-[3-(4,4-dimethyl-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydro-3-pyridazinyl)-phenyl]harnstoff



10 Bei Raumtemperatur werden 50 mg (0.23 mmol) 6-(3-Aminophenyl)-5,5-dimethyl-4,5-dihydro-3(2H)-pyridazinon mit 2 ml abs. THF versetzt und anschließend werden 71.4 mg (0.46 mmol) 2,4-Difluorphenylisocyanat zugegeben. Anfangs löst sich das 6-(3-Aminophenyl)-5,5-dimethyl-4,5-dihydro-3(2H)-pyridazinon nicht vollständig. Erst nach Zugabe des Isocyanates erhält man nach kurzer Zeit eine klare gelbe Lösung, aus der jedoch rasch ein weißer Niederschlag ausfällt. Man lässt über Nacht röhren und filtriert dann den Niederschlag ab. Mit Diethylether wird nachgewaschen und der weiße Feststoff im Vakuum getrocknet. Es werden 46.4 mg (54 % d. Th.) Produkt erhalten.

15 Fp.: 213°C

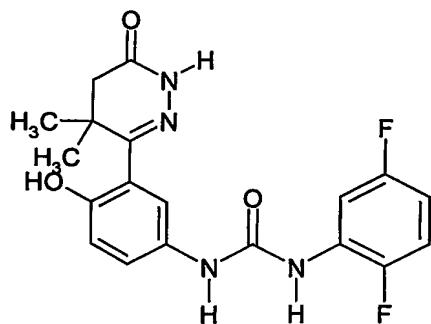
20  $^1\text{H-NMR}$  (200 MHz, DMSO):  $\delta$  = 1.16 (s, 6H), 2.35 (s, 2H), 6.97-7.11 (m, 2H), 7.25-7.39 (m, 3H), 7.65 (s, 1H), 7.99-8.17 (m, 1H), 8.50 (s, br 1H), 9.12 (s, br 1 H), 10.99 (s, 1H).

HPLC (Methode 3):  $R_t$  = 4.12 min

MS (ESIpos):  $m/z$  = 373 ( $M+\text{H}$ )<sup>+</sup>

**Beispiel 2**

N-(2,5-Difluorphenyl)-N'-[3-(4,4-dimethyl-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydro-3-pyridazinyl)-4-hydroxyphenyl]harnstoff



5

Die Synthese erfolgt analog zu Beispiel 1 aus den entsprechenden Edukten.

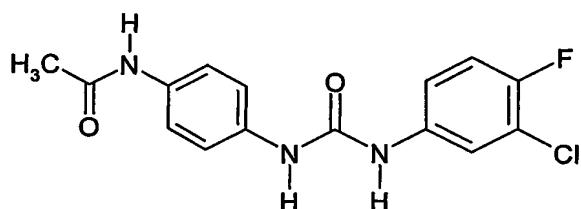
HPLC (Methode 3):  $R_t = 4.00 \text{ min}$

MS (ESIpos):  $m/z = 389 (\text{M}+\text{H})^+$

10

**Beispiel 3**

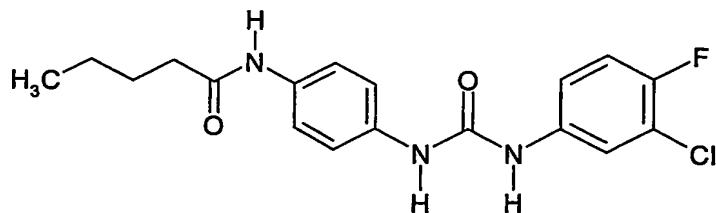
N-[4-({[(3-Chlor-4-fluorphenyl)amino]carbonyl}amino)phenyl]acetamid



- 15 Die Verbindung ist bei der Firma Salor (Deisenhofen, Deutschland, Art.-Nr. S90,580-1) käuflich zu erwerben.

**Beispiel 4**

N-[4-({[(3-Chlor-4-fluorphenyl)amino]carbonyl}amino)phenyl]pentanamid



Zu einer Lösung von 100.0 mg (0.358 mmol) Beispiel 11A in 5 ml DMF werden 70.7 mg (0.894 mmol) Pyridin und 64.7 mg (0.536 mmol) Pentanoylchlorid zugegeben.  
Es wird 18h bei RT gerührt. Nach Zugabe von Wasser fällt ein weißer Niederschlag aus, der abgesaugt und mit Wasser und Pentan gewaschen wird. Das Produkt wird im Hochvakuum getrocknet. Man erhält 62 mg (80% d. Th.) Produkt.

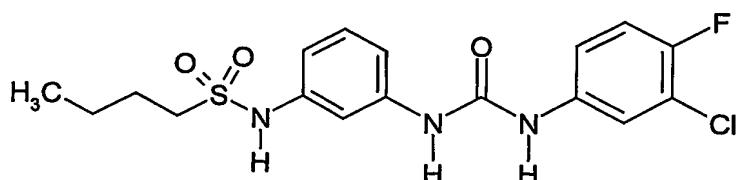
$R_f$  (Cyclohexan/Ethylacetat 1:3): 0.44

HPLC (Methode 2):  $R_t$  = 2.61 min

$^1H$ -NMR (300MHz,  $d_6$ -DMSO):  $\delta$  = 9.72 (s, 1H, NH), 8.79 (s, 1H, NH), 8.62 (s, 1H, NH), 7.83-7.74 (m, 1H,  $C_6H_3ClF$ ), 7.55-7.32 (m, 4H, p- $C_6H_4$ ), 7.32-7.25 (m, 2H,  $C_6H_3ClF$ ), 2.27 (t, 2H,  $CH_2$ ), 1.58 (q, 2H,  $CH_2$ ), 1.32 (sext, 2H,  $CH_2$ ), 0.90 (t, 3H,  $CH_3$ ).

### 15 Beispiel 5

N-[3-((3-Chlor-4-fluorophenyl)amino)carbonyl]amino]phenyl]-1-butansulfonamid



Zu einer Lösung von 200.0 mg (0.715 mmol) Beispiel 13A in einem Gemisch aus 2 ml DMF und 5 ml THF werden 169.7 mg (2.145 mmol) Pyridin und 168.0 mg (1.073 mmol) 1-Butansulfonylchlorid zugegeben. Es wird über Nacht bei RT gerührt. Nach Zugabe von Wasser fällt kein Niederschlag aus. Die Mischung wird im Vakuum eingeengt. Das Produkt wird über HPLC gereinigt (RP18-Säule; Laufmittel: Acetonitril-Wasser, Gradient 15:85->85:15). Man erhält 51 mg (18% d. Th.) Produkt.

$R_f$  (Cyclohexan/Ethylacetat 1:2): 0.51

HPLC (Methode 1):  $R_t = 4.28$  min

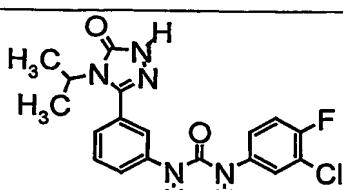
$^1\text{H-NMR}$  (300MHz,  $d_6$ -DMSO):  $\delta = 9.74$  (s, 1H, NH), 8.85 (s, 1H, NH), 8.78 (s, 1H, NH), 7.83-7.76 (m, 1H,  $C_6\text{H}_3\text{ClF}$ ), 7.38-7.27 (m, 3H, m- $C_6\text{H}_4$ ,  $C_6\text{H}_3\text{ClF}$ ), 7.24-7.18 (m, 2H, m- $C_6\text{H}_4$ ), 6.87-6.78 (m, 1H, m- $C_6\text{H}_4$ ), 3.08 (t, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.65 (q, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1.35 (sext, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 0.83 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

#### Allgemeine Arbeitsvorschrift [J]: Harnstoffe

- 10 1 Äquivalent des Anilins wird in THF vorgelegt (0.14 M Lösung) und mit 1 Äquivalent des entsprechenden Isocyanates versetzt. Die Lösung wird 1 Stunde bei Raumtemperatur geschüttelt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und das Produkt mittels präparativer HPLC gereinigt (CromSil C 18, 250x30, Fluss: 50 ml/min, Laufzeit: 38 min, Detektion bei 210 nm, Gradient: 10% Acetonitril  
 15 (3 min)->90 % Acetonitril (31 min)->90 % Acetonitril (34 min)->10 % Acetonitril (34.01 min)).

Die Beispiele 6 und 7 können nach der allgemeinen Synthesemethode [J] hergestellt werden.

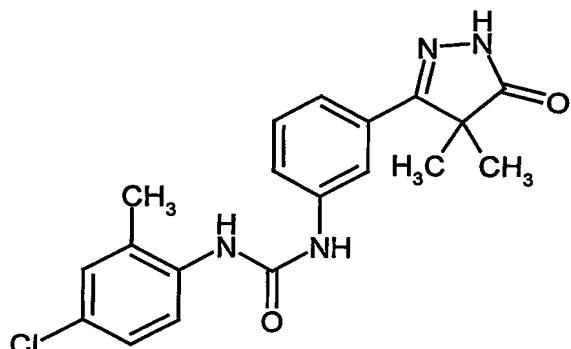
20

Beispiel	Struktur	Molekular-gewicht	MS (ESI+) m/z	HPLC $R_t$ [min]	HPLC-Methode
6		389.82	390	4.25	3

Beispiel	Struktur	Molekular- gewicht	MS (ESI+) m/z	HPLC R <sub>t</sub> [min]	HPLC- Methode
7		429.88	430	4.61	3

**Beispiel 8**

N-(4-Chlor-2-methylphenyl)-N'-[3-(4,4-dimethyl-5-oxo-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-yl)phenyl]harnstoff



5

46.2 mg (0.28 mmol) 4-Chlor-2-methylphenylisocyanat werden mit einer Lösung von 40 mg 5-(3-Aminophenyl)-4,4-dimethyl-2,4-dihydro-3H-pyrazol-3-on in 1 ml Essigsäureethylester und 0.2 ml Tetrahydrofuran versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Dabei beobachtet man die Bildung eines weißen Niederschlags.

10 Aufarbeitung: Die Reaktionsmischung wird eingeeengt und der erhaltene Rückstand nach Aufnahme in DMSO mittels RP-HPLC gereinigt. So erhält man 42 mg (58 % d.Th.) Produkt.

Fp.: 226.8°C

HPLC (Methode 3): R<sub>t</sub> = 4.33 min

15 MS (ESIpos): m/z = 371 (M+H)<sup>+</sup>

<sup>1</sup>H-NMR (200 MHz, DMSO): δ = 1.37 (s, 6H), 2.25 (s, 3H), 7.21 (dd, 1H), 7.28 (d, 1H), 7.35-7.46 (m, 3H), 7.88 (d, 1H), 8.02 (s br, 1H), 8.11 (s br, 1H), 9.23 (s br, 1H), 11.54 (s br, 1H)

5

### B. Bewertung der physiologischen Wirksamkeit

Die *in vitro*-Wirkung der erfindungsgemäßen Verbindungen kann im folgenden Assay gezeigt werden:

#### Virusanzucht:

10

Humanes Cytomegalievirus (HCMV), Stamm DavisSmith (ATCC VR807) oder AD169 (ATCC VR538), wird *in vitro* auf humanen embryonalen Vorhautfibroblasten (NHDF-Zellen) angezüchtet. Nach Infektion der NHDF-Zellen mit einer Multiplizität der Infektion (M.O.I) von 0,01 werden die virusinfizierten Zellen 5-10 Tage später geerntet und in Gegenwart von Minimal Essential Medium (MEM),

15

10 % foetalem Kälberserum (FKS) mit 10 % DMSO bei -80°C aufbewahrt. Zur Herstellung eines zellfreien Stocks wird nur der Zellkulturüberstand abgenommen und direkt bei -80°C eingefroren. Nach serieller Verdünnung der virusinfizierten Zellen oder des Zellkulturüberstandes der virusinfizierten Zellen (zellfreies Virus) in Zehnerschritten erfolgt die Titerbestimmung auf 24-Well-Platten konfluenter NHDF-

20

Zellen nach Vitalfärbung mit Neutralrot.

#### Anti-HCMV- (Anti-Humanes Cytomegalo-Virus) Zytopathogenitätstests

25

Die Testverbindungen werden als 50 millimolare (mM) Lösungen in Dimethylsulfoxid (DMSO) eingesetzt. Ganciclovir®, Foscarnet® und Cidofovir® dienen als Referenzverbindungen. Nach der Zugabe von jeweils 2 µl der 50, 5, 0,5 und 0,05 mM DMSO-Stammlösungen zu je 98 µl Zellkulturmedium in der Reihe 2 A-H in Doppelbestimmung werden 1:2-Verdünnungen mit je 50 µl Medium bis zur Reihe 11 der 96-Well-Platte durchgeführt. Die Wells in den Reihen 1 und 12 enthalten je 50 µl Medium. In die Wells werden dann je 150 µl einer Suspension von  $1 \times 10^4$  Zellen (humane Vorhautfibroblasten [NHDF]) pipettiert (Reihe 1 = Zellkontrolle) bzw. in die Reihen 2-12 ein Gemisch von HCMV-infizierten und nichtinfizierten NHDF-

30

Zellen (M.O.I. = 0,001 - 0,002), d.h. 1-2 infizierte Zellen auf 1000 nicht-infizierte Zellen. Die Reihe 12 (ohne Substanz) dient als Viruskontrolle. Die End-Testkonzentrationen liegen bei 250 - 0,0005 µM. Die Platten werden 6 Tage bei 37°C / 5 % CO<sub>2</sub> inkubiert, d.h. bis in den Viruskontrollen alle Zellen infiziert sind (100 % cytopathogener Effekt [CPE]). Die Wells werden dann durch Zugabe eines Gemisches von Formalin und Giemsa's Farbstoff fixiert und gefärbt (30 Minuten), mit aqua bidest. gewaschen und im Trockenschrank bei 50°C getrocknet. Danach werden die Platten mit einem Overhead-Mikroskop (Plaque Multiplier der Firma Technomara) visuell ausgewertet. Für die erfindungsgemäßen Substanzen ergaben sich die in Tabelle 1 aufgeführten IC<sub>50</sub>-Werte:

10

Tabelle 1: Antivirale Wirksamkeit in vitro

Beispiel	IC50[µM]	SI
1	1	125
2	0,4	325
3	0,5	40
4	0,08	750
5	0,14	70
6	0,4	150
7	1,5	30
8	0,6	30

15

### Selektion und Analyse von resistenten Mutanten

Dazu werden NHDF-Zellen in Gewebekulturgefäßen ausgesät.  $5 \times 10^3$  Zellen pro well werden in 96-well-Platten ausgesät und mit zellfreiem HCMV AD169 infiziert mit einer moi von 0,03. Die Infektionen werden unter Substanzdruck kultiviert, der dem 10-fachen IC<sub>50</sub> Wert der Substanz entspricht. Bevorzugterweise werden 30-100 wie beschrieben beimpfter 96-well-Platten angesetzt. Wells, die einen cytopathischen Effekt (CPE) vergleichbar einer Virusinfektion ohne Substanzdruck aufweisen, werden weiter analysiert, d.h. der die Viren enthaltende Wellinhalt (Zellen und

20

Zellkulturüberstand) wird auf frischen Zellkulturen passagiert und weiter unter Substanzdruck kultiviert. Schließlich werden, wie oben beschrieben, Virenstocks hergestellt und eingefroren. Nach serieller Verdünnung der virusinfizierten Zellen oder des Zellkulturüberstandes der virusinfizierten Zellen in Zehnerschritten erfolgt  
5 die Titerbestimmung auf 24-Well-Platten konfluenter NHDF-Zellen nach Vitalfärbung mit Neutralrot. Schließlich erfolgt die Bestimmung der Suszeptibilität gegenüber diversen Substanzen ( $IC_{50}$ -Wert Bestimmung) wie oben beschrieben.

#### Bestimmung der UL86-Sequenz

10

Die wie oben beschrieben selektierten HCMVAD169 Mutanten werden *in vitro* auf humanen embryonalen Vorhautfibroblasten (NHDF-Zellen) unter Substanzdruck (10x  $IC_{50}$  HCMVAD169) angezüchtet. Nach Infektion der NHDF-Zellen mit einer Multiplizität der Infektion (M.O.I) von 0,01 werden die virusinfizierten Zellen 5-10  
15 Tage später geerntet und es erfolgt eine Isolierung der Gesamt-DNA aus diesen Zellen mit Hilfe von etablierten Standardmethoden (z.B. Phenolextraktion und Ethanolpräzipitation). Qiagen Sequencing Services (Qiagen, Hilden) bestimmte nach Amplifikation des viralen UL86 Gens mittels PCR, die DNA-Sequenz, welche dann in Proteinsequenz umgeschrieben wurde. Im Vergleich zum Ausgangsstamm HCMV  
20 AD169 konnten bei den resistenten Viren die in Tabelle 2 dargestellten Abweichungen in der Proteinsequenz des Major Capsid Proteins (UL86) festgestellt werden. Die  $IC_{50}$ -Werte [ $\mu M$ ] diverser Substanzen bei diesen Mutanten im Vergleich zum Ausgangsstamm sind ebenfalls angegeben. (n.d. = nicht gemessen). Die auf UL86 einwirkenden Substanzen zeigen bei den UL86-Mutanten eine stark verringerte  
25 Wirksamkeit, wohingegen der DNA-Replikationsinhibitor Ganciclovir als Kontrolle

**Tabelle 2: HCMV-Stämme mit Mutationen in UL86 und ihre Empfindlichkeit gegenüber diversen HCMV-UL86-Inhibitoren im Vergleich zum Wildtyp HCMV-AD169**

HCMV AD169-Klon mit Mutation in UL86													
IC 50 [µM]	Wildtyp	R435C	D441N	D563N	P586T	V601M	R682H	A689T	P1189T	Q1223R	A1226T	E1320Q	K1338N
Ganciclovir	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	1	1,5	<u>20</u>	<u>&gt;125</u>	4	<u>20</u>	<u>20</u>	6	<u>&gt;125</u>	<u>20</u>	<u>&gt;125</u>	<u>&gt;125</u>	<u>&gt;125</u>
2	0,4	0,5	1,5	<u>6</u>	2	3	3	1	<u>&gt;125</u>	<u>6</u>	<u>&gt;125</u>	<u>13</u>	<u>&gt;125</u>
3	0,5	<u>&gt;20</u>	<u>&gt;20</u>	<u>&gt;20</u>	<u>&gt;20</u>	<u>&gt;20</u>	<u>&gt;20</u>	<u>&gt;20</u>	<u>&gt;20</u>	<u>&gt;20</u>	<u>&gt;20</u>	<u>&gt;20</u>	<u>&gt;20</u>
4	0,08	<u>&gt;60</u>	0,5	<u>1</u>	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	<u>2</u>	<u>1</u>	<u>0,8</u>	<u>2</u>
5	0,14	<u>6</u>	n.d.	<u>14</u>	0,8	<u>15</u>	n.d.	0,4	n.d.	<u>14</u>	n.d.	<u>9</u>	<u>9</u>
7	1,5	3	n.d.	<u>16</u>	7,6	12	n.d.	4,5	n.d.	12	n.d.	<u>24</u>	<u>15</u>
8	0,6	1,3	n.d.	<u>&gt;21</u>	<u>&gt;21</u>	<u>&gt;21</u>	n.d.	<u>&gt;21</u>	n.d.	<u>&gt;21</u>	n.d.	<u>&gt;21</u>	<u>&gt;21</u>

unverändert wirksam ist. Je nach Art der Substanz führen bestimmte Mutationen zu einer verschieden stark ausgeprägten Resistenz. Die Fälle, bei denen ein >10x erhöhter IC<sub>50</sub>-Wert festgestellt werden konnte sind fett und unterstrichen dargestellt.

- 5 Die Eignung der erfindungsgemäßen Verbindungen zur Behandlung von HCMV Infektionen kann im folgenden Tiermodell untersucht werden:

**HCMV Xenograft-Gelfoam®-Modell**

Tiere:

- 10 3-4 Wochen alte weibliche immundefiziente Mäuse (16-18 g), Fox Chase SCID oder Fox Chase SCID-NOD oder SCID-beige werden von kommerziellen Züchtern (Bomholtgaard, Jackson, USA) bezogen. Die Tiere werden unter sterilen Bedingungen (einschließlich Streu und Futter) in Isolatoren gehalten.

- 15 Vorbereitung der Schwämme, Transplantation, Behandlung und Auswertung:

1x1x1 cm große Kollagenschwämme (Gelfoam®; Fa. Peasel & Lorey, Best.-Nr. 407534; K.T. Chong et al., Abstracts of 39<sup>th</sup> Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1999, S. 439) werden zunächst mit Phosphat-gepufferten Saline (PBS) benetzt, die eingeschlossenen Luftblasen durch Entgasen entfernt und dann in MEM + 10 % FKS aufbewahrt. 1 x 10<sup>6</sup> virusinfizierte NHDF-Zellen (Infektion mit HCMV-Davis oder HCMV AD169 M.O.I = 0.03) werden 3 Stunden nach Infektion abgelöst und in 20 µl MEM, 10 % FKS auf einen feuchten Schwamm getropft. 12-13 Stunden später werden die infizierten Schwämme mit 25 µl PBS / 0,1 % BSA / 1 mM DTT mit 5 ng/µl basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) inkubiert.

- 20 Zur Transplantation werden die immundefizienten Mäuse mit Avertin oder mit einer Ketamin/Xylazin/Azepromazin Mischung narkotisiert, das Rückenfell mit Hilfe eines Rasierers entfernt, die Oberhaut 1-2 cm geöffnet, entlastet und die feuchten Schwämme unter die Rückenhaut transplantiert. Die Operationswunde wird mit Ge webekleber verschlossen. 6 Stunden nach der Transplantation werden die Mäuse zum ersten Mal behandelt (am Tag der Operation wird einmal behandelt). An den folgenden Tagen wird über einen Zeitraum von 8 Tagen dreimal täglich (7.00 Uhr und

14.00 Uhr und 19.00 Uhr), zweimal täglich (8 Uhr und 18 Uhr) oder einmal täglich (14 Uhr) peroral mit Substanz behandelt. Die Tagesdosis beträgt 3 oder 10 oder 30 oder 60 oder 100 mg/kg Körpergewicht, das Applikationsvolumen 10 ml/kg Körpergewicht. Die Formulierung der Substanzen erfolgt in Form einer 0,5 %-igen Tylose-suspension mit 2 % DMSO oder einer 0,5 %-igen Tylosesuspension. 9 Tage nach Transplantation und 16 Stunden nach der letzten Substanzapplikation werden die Tiere schmerzlos getötet und der Schwamm entnommen. Die virusinfizierten Zellen werden durch Kollagenaseverdau (330 U/ 1,5 ml) aus dem Schwamm freigesetzt und in Gegenwart von MEM, 10 % foetalem Kälberserum, 10 % DMSO bei -140°C aufbewahrt. Die Auswertung erfolgt nach serieller Verdünnung der virusinfizierten Zellen in Zehnerschritten durch Titerbestimmung auf 24-Well-Platten konfluenter NHDF-Zellen nach Vitalfärbung mit Neutralrot. Ermittelt wird die Anzahl infektiöser Viruspartikel nach Substanzbehandlung im Vergleich zur placebobehandelten Kontrollgruppe. Für die erfindungsgemäßen Substanzen ergaben sich die in Tabelle 3 aufgeführten ungefähren Ergebnisse:

**Tabelle 3:** Antivirale Wirksamkeit in vivo

Beispiel	ED50 [mg/kg/Tag]
1	50
2	45
4	70

**20 C. Ausführungsbeispiele für pharmazeutische Zusammensetzungen**

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können folgendermaßen in pharmazeutische Zubereitungen überführt werden:

Tablette:

Zusammensetzung:

100 mg der Verbindung von Beispiel 1, 50 mg Lactose (Monohydrat), 50 mg Maisstärke (nativ), 10 mg Polyvinylpyrrolidon (PVP 25) (Fa. BASF, Ludwigshafen, 5 Deutschland) und 2 mg Magnesiumstearat.

Tablettengewicht 212 mg. Durchmesser 8 mm, Wölbungsradius 12 mm.

Herstellung:

Die Mischung aus Wirkstoff, Lactose und Stärke wird mit einer 5%-igen Lösung (m/m) des PVPs in Wasser granuliert. Das Granulat wird nach dem Trocknen mit dem Magnesiumstearat für 5 min. gemischt. Diese Mischung wird mit einer üblichen Tablettenpresse verpresst (Format der Tablette siehe oben). Als Richtwert für die Verpressung wird eine Presskraft von 15 kN verwendet.

15 Oral applizierbare Suspension:

Zusammensetzung:

1000 mg der Verbindung von Beispiel 1, 1000 mg Ethanol (96%), 400 mg Rhodigel (Xanthan gum der Fa. FMC, Pennsylvania, USA) und 99 g Wasser.

Einer Einzeldosis von 100 mg der erfindungsgemäßen Verbindung entsprechen 10 ml orale Suspension.

Herstellung:

Das Rhodigel wird in Ethanol suspendiert, der Wirkstoff wird der Suspension zugefügt. Unter Rühren erfolgt die Zugabe des Wassers. Bis zum Abschluß der Quellung des Rhodigels wird ca. 6h gerührt.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Identifikation von Verbindungen mit anti-Herpesvirusaktivität, dadurch gekennzeichnet, dass

5

- i) das Major Capsid Protein oder ein oder mehrere Fragmente des Major Capsid Proteins mit Testverbindungen in Kontakt gebracht wird und
- ii) die Bindung der Testsubstanzen an das Major Capsid Protein bzw. die Fragmente gemessen wird und
- iii) solche Verbindungen ausgewählt werden, welche Bindung an das Major Capsid Protein bzw. die Fragmente aufweisen.

10

2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei das Herpesvirus ein Humanes Cytomegalievirus (HCMV) ist.

15

3. Verfahren zum Auswählen von Verbindungen mit anti-Herpesvirus-Aktivität, gekennzeichnet dadurch, dass

20

- i) Herpesviren mit Testverbindungen in Kontakt gebracht werden,
- ii) resistente Herpesviren ausgelesen werden,
- iii) das für das Major Capsid Protein kodierende Gen dieser resistenten Herpesviren sequenziert und die resultierende Proteinsequenz des Major Capsid Proteins abgeleitet wird, und
- iv) solche Verbindungen ausgewählt werden, bei denen resistente Herpesviren mit einer oder mehreren Aminosäuresubstitutionen im Major-Capsid-Protein auftreten.

25

4. Verfahren nach Anspruch 3, wobei das Herpesvirus ein Humanes Cytomegalievirus (HCMV) ist.

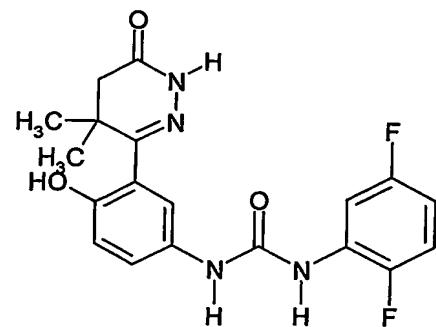
30

5. Verwendung von einem oder mehreren Stoffen, die an das virale Major Capsid Protein binden, zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Infektionen durch Herpesviren.
- 5      6. Verwendung gemäss Anspruch 5, wobei es sich bei dem Herpesvirus um Humane Cytomegalieviren (HCMV) handelt.
- 10      7. Verwendung von einem oder mehreren durch Ansprüche 3 oder 4 identifizierten Stoffen zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Infektionen durch Herpesviren.
8. Verwendung gemäss Anspruch 7, wobei es sich bei dem Herpesvirus um das Humane Cytomegalievirus (HCMV) handelt.
- 15      9. Verwendung gemäss einem der Ansprüche 5 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass der oder die darin verwendeten Stoffe die Bildung nicht-infektiöser B-Kapside, nicht aber die Bildung infektiöser C-Kapside zulassen.
- 20      10. Verwendung von einem oder mehreren Stoffen, die die Bildung nicht-infektiöser B-Kapside, nicht aber die Bildung infektiöser C-Kapside zulassen, zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Infektionen durch Humane Cytomegalieviren (HCMV).
- 25      11. Verwendung gemäss einem der Ansprüche 5-6 oder 9-10, dadurch gekennzeichnet, dass gegenüber dem verwendeten Stoff bzw. den verwendeten Stoffen resistente Viren eine oder mehrere Mutationen in der Aminosäuresequenz des Major Capsid Proteins aufweisen.
- 30      12. Verwendung gemäss einem der Ansprüche 6, 8, 9 oder 10 dadurch gekennzeichnet, dass eine oder mehrere Mutationen im UL86 Protein an einer oder

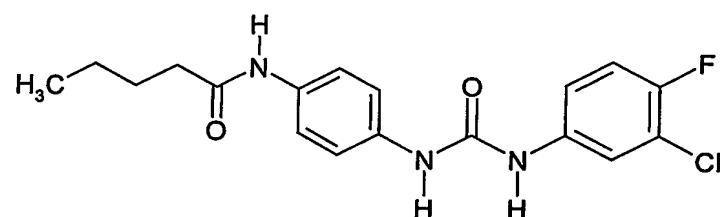
mehrerer der folgenden Positionen zur Resistenz gegenüber den Substanzen führt:

5 R435C, D441N, Y522C, D563N, P586T, V601M, R682H, A689T (Cluster 1); P1189T, P1189S, Q1223R, A1226T, E1320Q, K1338N (Cluster 2).

- 10
13. Verwendung gemäss Anspruch 12, wobei es sich um eine oder mehrere Mutationen zwischen den Aminosäuren 400 und 700 bzw. 1150 und 1370 handelt.
14. Verfahren zur Inhibition der Replikation von Herpesviren durch Substanzen, welche auf das Major Capsid Protein einwirken.
15. Verfahren nach Anspruch 14, wobei die Bildung von C-Kapsiden, nicht aber von B-Kapsiden inhibiert wird.
16. Verfahren nach 14 oder 15, wobei es sich bei dem Herpesvirus um ein Humanes Cytomegalievirus handelt.
- 20 17. Verwendung von Substanzen, welche die Replikation von HCMV Towne nicht oder nur unzureichen hemmen und die Replikation von HCMV Wildtyp Stämmen hemmen, zur Herstellung von Arzneimitteln zur Therapie und Prophylaxe von HCMV-Infektionen.
- 25 18. Arzneimittel, hergestellt nach einem der Verfahren gemäss der Ansprüche 5 bis 17.
19. Verbindung der Formel:

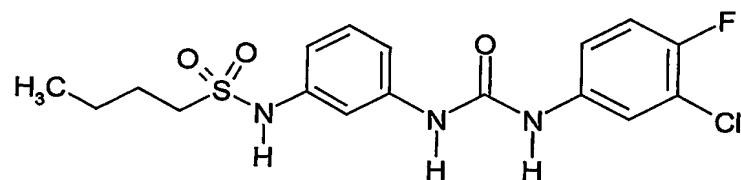


20. Verbindung der Formel:



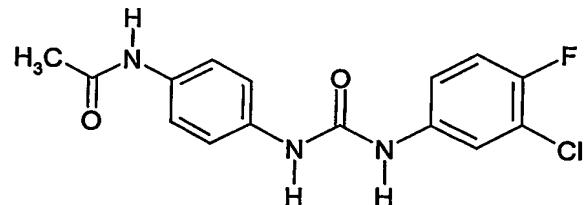
5

21. Verbindung der Formel:



10

22. Verbindung der Formel



15

zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Krankheiten.

**Methode zur Inhibition der Replikation von Herpesviren**

**Z u s a m m e n f a s s u n g**

Die Erfindung betrifft eine Methode zur Inhibition der Replikation von Herpesviren, Verfahren zum Identifizieren von Verbindungen welche die Replikation von Herpesviren mit dieser Methode inhibieren, Verbindungen mit Aktivität gegen Herpesviren, Verfahren zu ihrer Herstellung sowie ihre Verwendung zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Herpes-Infektionen.

**Fig. 1:**

MENWSALELLPKVGIPTDFLTHVKTSAGEEMFEALRIYYGDDPERYNI  
HFEAIFGTFCNRLEWVYFLTSGLAAAAHAIKFHDLNKLTTGKMLFHVQ  
VPRVASGAGLPTSRQTTIMVTKYSEKSPITIPFELSAACLTYLRETFE  
GTILDKILNVEAMHTVLRALKNTADAMERGLIHSFLQTLLRKAPPYFV  
VQTLVENATLARQALNRIQRSNILQSFKAQMLATLFLLNRTRDRDYVL  
KFLTRLAEAATDSILDNPPTYTSSGAKISGMVSTANVMQIIMSLLS  
SHITKETVSAPATYGNEVLSPENAVTAISYHSILADFNSYKAHLTSGQ  
PHLPNDSSLSQAGAHSLTPLSMVDVRLGEKTVIMENLRRVYKNTDKDP  
LERNVDLTFPPVGLYLPEDRGYTTVESKVKLNDTVRNALPTTAYLLN  
RDRAVQKIDFVDALKTLCHPVLHEPAPCLQFTTERGPPSEPAMQLLE  
CRFQQEPMGGAARRIPHYRVRREVPRVNEMKQDFVVTDFYKVGNI  
LYTELHPFFDFTHCQENSETVALCTPRIVIGNLPDGLAPGPFHELRTW  
EIMEHMRLRPPPDYEETLRLFKTTVTSPNYPELCYLVVDVLVHGNVDAF  
LLIRTTFVARCIVNMFHTRQLLVFAHSYALVTLIAEHLADGALPPQLL  
HYRNLVAVLRLVTRISALPGLNNQLAEEPLSAYVNALHDHRLWPPFV  
THLPRNMEGVQVVADRQPLNPANIEARHHGVSDVPRLGAMDAEPLFV  
DDYRATDDEWTLQKVFYLCMPAMTNNRACGLGLNLKTLVLDLFYRPA  
FLLMPAATAVSTSGTTSKESTSGVTPEDSIAAQRQAVGEMLTELVEDV  
ATDAHTPLLQACRELFLAVQFVGEHVKVLEVRAPLDHAQRQGLPDFIS  
RQHVLYNGCCVVTAPKTLIEYSLPVFHRFYSNPTICAALSDDIKRYV  
TEFPHYHRHDGGFPLPTAFAHEYHNWLRSFPSRYSATCPNVLHSVMTL  
AAMLYKISPVSLVLQTKAHIHGFALTAVRTDTFEVDMLLYSGKSCTS  
VIINNPIVTKEERDISTTYHVTQNINTVDMGLGYSNTCVAYVNRVRT  
DMGVRVQDLFRVFPMVYRHDEVDRWIRHAAGVERPQLLDETISMLT  
FGSMSERAAATVHGQKAACELILTPTMDVNYFKIPNNPRGRASCML  
AVDPYDTEAATKAIYDHREADAQTFATHNPWASQAGCLSVDLYNTRH  
RERLGYNNSKFYSPCAQYFNTEEIIAANKTLFKTIDEYLLRAKDCIRGD  
TDTQYVCVEGTEQLIENPCRLTQEALPILSTTLALMETKLKGAGAF  
ATSETHFGNYVVGEIIPLOQSMILFNS

SEQUENCE LISTING

<110> Bayer AG, BHC

<120> Methode zur Inhibition der Replikation von Herpesviren

<130> Le A 36 269

<160> 1

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 1370

<212> PRT

<213> Human cytomegalovirus

<400> 1

Met Glu Asn Trp Ser Ala Leu Glu Leu Leu Pro Lys Val Gly Ile Pro  
1 5 10 15

Thr Asp Phe Leu Thr His Val Lys Thr Ser Ala Gly Glu Glu Met Phe  
20 25 30

Glu Ala Leu Arg Ile Tyr Tyr Gly Asp Asp Pro Glu Arg Tyr Asn Ile  
35 40 45

His Phe Glu Ala Ile Phe Gly Thr Phe Cys Asn Arg Leu Glu Trp Val  
50 55 60

Tyr Phe Leu Thr Ser Gly Leu Ala Ala Ala His Ala Ile Lys Phe  
65 70 75 80

His Asp Leu Asn Lys Leu Thr Thr Gly Lys Met Leu Phe His Val Gln  
85 90 95

Val Pro Arg Val Ala Ser Gly Ala Gly Leu Pro Thr Ser Arg Gln Thr  
100 105 110

Thr Ile Met Val Thr Lys Tyr Ser Glu Lys Ser Pro Ile Thr Ile Pro  
115 120 125

Phe Glu Leu Ser Ala Ala Cys Leu Thr Tyr Leu Arg Glu Thr Phe Glu  
130 135 140

Gly Thr Ile Leu Asp Lys Ile Leu Asn Val Glu Ala Met His Thr Val  
145 150 155 160

Leu Arg Ala Leu Lys Asn Thr Ala Asp Ala Met Glu Arg Gly Leu Ile  
165 170 175

His Ser Phe Leu Gln Thr Leu Leu Arg Lys Ala Pro Pro Tyr Phe Val  
180 185 190

Val Gln Thr Leu Val Glu Asn Ala Thr Leu Ala Arg Gln Ala Leu Asn  
195 200 205

Arg Ile Gln Arg Ser Asn Ile Leu Gln Ser Phe Lys Ala Lys Met Leu

210	215	220
Ala Thr Leu Phe Leu Leu Asn Arg Thr Arg Asp Arg Asp Tyr Val Leu		
225	230	235
Lys Phe Leu Thr Arg Leu Ala Glu Ala Ala Thr Asp Ser Ile Leu Asp		240
245	250	255
Asn Pro Thr Thr Tyr Thr Ser Ser Gly Ala Lys Ile Ser Gly Val		
260	265	270
Met Val Ser Thr Ala Asn Val Met Gln Ile Ile Met Ser Leu Leu Ser		
275	280	285
Ser His Ile Thr Lys Glu Thr Val Ser Ala Pro Ala Thr Tyr Gly Asn		
290	295	300
Phe Val Leu Ser Pro Glu Asn Ala Val Thr Ala Ile Ser Tyr His Ser		
305	310	315
Ile Leu Ala Asp Phe Asn Ser Tyr Lys Ala His Leu Thr Ser Gly Gln		320
325	330	335
Pro His Leu Pro Asn Asp Ser Leu Ser Gln Ala Gly Ala His Ser Leu		
340	345	350
Thr Pro Leu Ser Met Asp Val Ile Arg Leu Gly Glu Lys Thr Val Ile		
355	360	365
Met Glu Asn Leu Arg Arg Val Tyr Lys Asn Thr Asp Thr Lys Asp Pro		
370	375	380
Leu Glu Arg Asn Val Asp Leu Thr Phe Phe Pro Val Gly Leu Tyr		
385	390	395
Leu Pro Glu Asp Arg Gly Tyr Thr Val Glu Ser Lys Val Lys Leu		400
405	410	415
Asn Asp Thr Val Arg Asn Ala Leu Pro Thr Thr Ala Tyr Leu Leu Asn		
420	425	430
Arg Asp Arg Ala Val Gln Lys Ile Asp Phe Val Asp Ala Leu Lys Thr		
435	440	445
Leu Cys His Pro Val Leu His Glu Pro Ala Pro Cys Leu Gln Thr Phe		
450	455	460
Thr Glu Arg Gly Pro Pro Ser Glu Pro Ala Met Gln Arg Leu Leu Glu		
465	470	475
Cys Arg Phe Gln Gln Glu Pro Met Gly Gly Ala Ala Arg Arg Ile Pro		480
485	490	495
His Phe Tyr Arg Val Arg Arg Glu Val Pro Arg Thr Val Asn Glu Met		
500	505	510
Lys Gln Asp Phe Val Val Thr Asp Phe Tyr Lys Val Gly Asn Ile Thr		
515	520	525
Leu Tyr Thr Glu Leu His Pro Phe Phe Asp Phe Thr His Cys Gln Glu		
530	535	540
Asn Ser Glu Thr Val Ala Leu Cys Thr Pro Arg Ile Val Ile Gly Asn		
545	550	555
Leu Pro Asp Gly Leu Ala Pro Gly Pro Phe His Glu Leu Arg Thr Trp		560
565	570	575

Glu Ile Met Glu His Met Arg Leu Arg Pro Pro Pro Asp Tyr Glu Glu  
580 585 590  
Thr Leu Arg Leu Phe Lys Thr Thr Val Thr Ser Pro Asn Tyr Pro Glu  
595 600 605  
Leu Cys Tyr Leu Val Asp Val Leu Val His Gly Asn Val Asp Ala Phe  
610 615 620  
Leu Leu Ile Arg Thr Phe Val Ala Arg Cys Ile Val Asn Met Phe His  
625 630 635 640  
Thr Arg Gln Leu Leu Val Phe Ala His Ser Tyr Ala Leu Val Thr Leu  
645 650 655  
Ile Ala Glu His Leu Ala Asp Gly Ala Leu Pro Pro Gln Leu Leu Phe  
660 665 670  
His Tyr Arg Asn Leu Val Ala Val Leu Arg Leu Val Thr Arg Ile Ser  
675 680 685  
Ala Leu Pro Gly Leu Asn Asn Gly Gln Leu Ala Glu Glu Pro Leu Ser  
690 695 700  
Ala Tyr Val Asn Ala Leu His Asp His Arg Leu Trp Pro Pro Phe Val  
705 710 715 720  
Thr His Leu Pro Arg Asn Met Glu Gly Val Gln Val Val Ala Asp Arg  
725 730 735  
Gln Pro Leu Asn Pro Ala Asn Ile Glu Ala Arg His His Gly Val Ser  
740 745 750  
Asp Val Pro Arg Leu Gly Ala Met Asp Ala Asp Glu Pro Leu Phe Val  
755 760 765  
Asp Asp Tyr Arg Ala Thr Asp Asp Glu Trp Thr Leu Gln Lys Val Phe  
770 775 780  
Tyr Leu Cys Leu Met Pro Ala Met Thr Asn Asn Arg Ala Cys Gly Leu  
785 790 795 800  
Gly Leu Asn Leu Lys Thr Leu Leu Val Asp Leu Phe Tyr Arg Pro Ala  
805 810 815  
Phe Leu Leu Met Pro Ala Ala Thr Ala Val Ser Thr Ser Gly Thr Thr  
820 825 830  
Ser Lys Glu Ser Thr Ser Gly Val Thr Pro Glu Asp Ser Ile Ala Ala  
835 840 845  
Gln Arg Gln Ala Val Gly Glu Met Leu Thr Glu Leu Val Glu Asp Val  
850 855 860  
Ala Thr Asp Ala His Thr Pro Leu Leu Gln Ala Cys Arg Glu Leu Phe  
865 870 875 880  
Leu Ala Val Gln Phe Val Gly Glu His Val Lys Val Leu Glu Val Arg  
885 890 895  
Ala Pro Leu Asp His Ala Gln Arg Gln Gly Leu Pro Asp Phe Ile Ser  
900 905 910  
Arg Gln His Val Leu Tyr Asn Gly Cys Cys Val Val Thr Ala Pro Lys  
915 920 925  
Thr Leu Ile Glu Tyr Ser Leu Pro Val Pro Phe His Arg Phe Tyr Ser

930	935	940
Asn Pro Thr Ile Cys Ala Ala Leu Ser Asp Asp Ile Lys Arg Tyr Val		
945	950	955
Thr Glu Phe Pro His Tyr His Arg His Asp Gly Gly Phe Pro Leu Pro		960
965	970	975
Thr Ala Phe Ala His Glu Tyr His Asn Trp Leu Arg Ser Pro Phe Ser		
980	985	990
Arg Tyr Ser Ala Thr Cys Pro Asn Val Leu His Ser Val Met Thr Leu		
995	1000	1005
Ala Ala Met Leu Tyr Lys Ile Ser Pro Val Ser Leu Val Leu Gln		
1010	1015	1020
Thr Lys Ala His Ile His Pro Gly Phe Ala Leu Thr Ala Val Arg		
1025	1030	1035
Thr Asp Thr Phe Glu Val Asp Met Leu Leu Tyr Ser Gly Lys Ser		
1040	1045	1050
Cys Thr Ser Val Ile Ile Asn Asn Pro Ile Val Thr Lys Glu Glu		
1055	1060	1065
Arg Asp Ile Ser Thr Thr Tyr His Val Thr Gln Asn Ile Asn Thr		
1070	1075	1080
Val Asp Met Gly Leu Gly Tyr Thr Ser Asn Thr Cys Val Ala Tyr		
1085	1090	1095
Val Asn Arg Val Arg Thr Asp Met Gly Val Arg Val Gln Asp Leu		
1100	1105	1110
Phe Arg Val Phe Pro Met Asn Val Tyr Arg His Asp Glu Val Asp		
1115	1120	1125
Arg Trp Ile Arg His Ala Ala Gly Val Glu Arg Pro Gln Leu Leu		
1130	1135	1140
Asp Thr Glu Thr Ile Ser Met Leu Thr Phe Gly Ser Met Ser Glu		
1145	1150	1155
Arg Asn Ala Ala Ala Thr Val His Gly Gln Lys Ala Ala Cys Glu		
1160	1165	1170
Leu Ile Leu Thr Pro Val Thr Met Asp Val Asn Tyr Phe Lys Ile		
1175	1180	1185
Pro Asn Asn Pro Arg Gly Arg Ala Ser Cys Met Leu Ala Val Asp		
1190	1195	1200
Pro Tyr Asp Thr Glu Ala Ala Thr Lys Ala Ile Tyr Asp His Arg		
1205	1210	1215
Glu Ala Asp Ala Gln Thr Phe Ala Ala Thr His Asn Pro Trp Ala		
1220	1225	1230
Ser Gln Ala Gly Cys Leu Ser Asp Val Leu Tyr Asn Thr Arg His		
1235	1240	1245
Arg Glu Arg Leu Gly Tyr Asn Ser Lys Phe Tyr Ser Pro Cys Ala		
1250	1255	1260
Gln Tyr Phe Asn Thr Glu Glu Ile Ile Ala Ala Asn Lys Thr Leu		
1265	1270	1275

Phe Lys Thr Ile Asp Glu Tyr Leu Leu Arg Ala Lys Asp Cys Ile  
1280 1285 1290  
Arg Gly Asp Thr Asp Thr Gln Tyr Val Cys Val Glu Gly Thr Glu  
1295 1300 1305  
Gln Leu Ile Glu Asn Pro Cys Arg Leu Thr Gln Glu Ala Leu Pro  
1310 1315 1320  
Ile Leu Ser Thr Thr Leu Ala Leu Met Glu Thr Lys Leu Lys  
1325 1330 1335  
Gly Gly Ala Gly Ala Phe Ala Thr Ser Glu Thr His Phe Gly Asn  
1340 1345 1350  
Tyr Val Val Gly Glu Ile Ile Pro Leu Gln Gln Ser Met Leu Phe  
1355 1360 1365  
Asn Ser  
1370

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:



### **BLACK BORDERS**

- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT OR DRAWING
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- GRAY SCALE DOCUMENTS
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**